



## 饲料中胆碱对大口黑鲈幼鱼生长性能、体成分和血清抗氧化机能的影响

周越<sup>1</sup>, 王伟隆<sup>1,2,3</sup>, 李松林<sup>1,2,3</sup>, 吕红雨<sup>1</sup>,  
张松<sup>4</sup>, 陈乃松<sup>1,2,3</sup>, 黄旭雄<sup>1,2,3\*</sup>

- (1. 上海海洋大学, 农业农村部鱼类营养与环境生态研究中心, 上海 201306;  
2. 上海海洋大学, 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306;  
3. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;  
4. 广州市联鲲生物科技有限公司, 广东 广州 511483)

**摘要:** 为研究饲料中胆碱对大口黑鲈幼鱼生长性能、体成分以及血清抗氧化机能的影响, 在基础饲料中分别添加 0 (对照组)、700、1 400、2 100 和 2 800 mg/kg 的氯化胆碱, 配制成 5 组等氮等能的实验饲料 (胆碱实测含量分别为 2 369.57、2 716.90、2 993.49、3 443.60 和 3 799.05 mg/kg), 分别投喂初始体质量为 (20.00±0.10) g 的大口黑鲈幼鱼 56 d。结果显示, 实验鱼的增重率 (WGR) 和特定生长率 (SGR) 随着饲料中氯化胆碱添加量的提高呈先升后降的变化, 在添加量为 2 100 mg/kg 的饲料组均达到最大值, 显著高于对照组; 饲料中添加氯化胆碱对实验鱼的存活率 (SR)、肝体比 (HSI)、脏体比 (VSI) 和肥满度 (CF) 无显著影响。当氯化胆碱添加量达到 2 100 mg/kg 饲料及以上时, 鱼体肌肉和肝脏的粗脂肪含量均显著低于对照组。相比于对照组, 添加 1 400~2 800 mg/kg 氯化胆碱组的鱼体血清中总抗氧化能力 (T-AOC)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和过氧化氢酶 (CAT) 活性显著提高, 血清中丙二醛 (MDA) 的含量显著降低; 氯化胆碱添加量为 2 100 mg/kg 饲料组鱼体血清溶菌酶 (LZM) 和谷草转氨酶 (AST) 的活性分别达到最大值和最小值, 且与对照组差异显著。研究表明, 饲料中适量添加氯化胆碱可显著提高大口黑鲈幼鱼的生长性能、降低肝脏脂肪含量及增强抗氧化能力。回归分析显示, 大口黑鲈幼鱼饲料中氯化胆碱建议添加量为 2 008.50~2 398.16 mg/kg (饲料胆碱含量为 3 432.09~3 530.23 mg/kg)。

**关键词:** 大口黑鲈; 胆碱含量; 生长性能; 脂肪含量; 抗氧化能力; 溶菌酶活性

中图分类号: S 963.73<sup>+1</sup>

文献标志码: A

胆碱, 分子式为 (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH, 化学名称为 β-羟乙基-三甲基胺羟化物, 是维持水产动物正常生长所必需的水溶性维生素。胆碱作为重要

神经递质乙酰胆碱的前体和甲基供体, 参与机体神经传递活动并促进体内转甲基代谢, 对水产动物的生长代谢具有重要作用, 具有维持组织正常

收稿日期: 2020-08-20 修回日期: 2020-09-21

资助项目: 国家现代农业产业技术体系专项 (CARS-46)

第一作者: 周越 (照片), 从事水产动物营养与饲料学研究, E-mail: 717675521@qq.com

通信作者: 黄旭雄, 从事水产动物营养与饲料学研究, E-mail: xxhuang@shou.edu.cn



结构和防止脂肪肝的重要生理功能<sup>[1]</sup>。由于鱼体内胆碱合成酶活性较低,自身合成的胆碱无法满足其快速生长的需求<sup>[2]</sup>,因此,鱼类必需摄取外源性胆碱才能满足其正常的生长需要。饲料中缺乏胆碱会导致黄鳊 (*Monopterus albus*)<sup>[3]</sup> 和高首鲟 (*Acipenser transmontanus*)<sup>[4]</sup> 的生长受阻、消化机能和饲料利用率降低;引发斑点叉尾鲟 (*Ictalurus punctatus*)<sup>[5]</sup> 和草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)<sup>[6]</sup> 脂肪代谢障碍、诱发脂肪肝等症状。

研究表明,在拉萨裸裂尻鱼 (*Schizopygopsis younghusbandi*)<sup>[7]</sup> 饲料中添加 0.2% 的氯化胆碱能显著提高其增重率,在中华鲟 (*A. sinensis*)<sup>[8]</sup> 饲料中添加 5 370 mg/kg 氯化胆碱能显著降低其饲料系数并提高增重率。在点带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*)<sup>[9]</sup> 幼鱼阶段(体质量为 7.5 g)添加 1 562.82 mg/kg 胆碱能显著提高其增重率,而在其生长至体质量为 87.5 g 时仅需要 986.54 mg/kg 胆碱就可使其增重率显著提升。可见,鱼类对饲料中胆碱的需求量存在一定的种间及生长阶段的特异性。

大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 是典型的肉食性鱼类。自 20 世纪 80 年代从美国引进我国后已发展成为我国淡水养殖的主要品种之一,2019 年我国大口黑鲈年产量已达到 47.8 万 t<sup>[10]</sup>。随着大口黑鲈养殖业的快速发展,有关大口黑鲈对饲料中蛋白质<sup>[11]</sup>、脂肪<sup>[12]</sup> 的营养需求和碳水化合物的耐受性<sup>[13]</sup> 以及对饲料维生素 A<sup>[14]</sup>、维生素 C<sup>[15-16]</sup>、维生素 D<sub>3</sub><sup>[17]</sup> 和维生素 E<sup>[18-19]</sup> 等需求已有报道,对饲料胆碱的营养需求却未有公开报道。

本研究以氯化胆碱为原料,探讨饲料中胆碱含量的变化对大口黑鲈幼鱼生长、饲料利用率、体成分及抗氧化能力的影响,为大口黑鲈幼鱼配合饲料的科学配制提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设计及饲料配制

以鱼粉、玉米蛋白粉、豆粕、虾粉和血粉等为蛋白源,豆油和磷脂油为脂肪源,配制基础饲料。在基础饲料中分别添加 0 (对照组)、700、1 400、2 100 和 2 800 mg/kg 的氯化胆碱(纯度 50%,浙江欣欣天恩水产饲料股份有限公司),制成 5 组等氮等脂饲料,各组饲料中胆氮等脂饲料,各组饲料中胆碱实测含量分别为 2 369.57、2 716.90、2 993.49、3 443.60 和 3 799.05 mg/kg 饲料,实验饲

料组成及营养水平见表 1。

实验饲料的制作:将所有干粉原料粉碎后过 80 目筛,按配方比例混合均匀后,再加入油脂放入 V 型立式混合机中混合均匀,缓慢加入所配饲料质量 20%~30% 的水后再次混匀,使用膨化制粒机制成粒径 3 mm、长度 5 mm 的颗粒饲料,待其烘干后,封口袋分装并储存于 -20 °C 冰箱中备用。

### 1.2 实验用鱼与养殖管理

实验用鱼购得后在水泥池养殖驯化 1 个月,期间投喂大口黑鲈幼鱼商品饲料。驯化后的实验鱼经 24 h 饥饿处理后,挑选健康和体质量相近的个体进行称重与分组(5 个饲料处理组,每个处理组 3 个重复)。随机分配于 15 个网箱中(1 m×1 m×1 m),每个网箱放养初始体质量为 (20.00±0.10) g 的实验鱼 20 尾。实验期间采取表观饱食投喂,每天投喂 2 次(08:00 和 16:00)。实验期间采取自然光照,水温 (27±3) °C,氨氮浓度不高于 0.15 mg/L, pH 为 7.2±0.2,不间断充气,溶解氧在 7.0 mg/L 以上,养殖实验共持续 56 d。

### 1.3 样品收集和分析

样品收集 养殖实验结束,实验鱼经 24 h 饥饿后,统计每个网箱鱼的尾数及总重。每个网箱随机抽取 10 尾鱼,分别测量体质量和体长并记录数据,再进行鱼血采集和组织样品采集。使用 1 mL 注射器从尾静脉抽血,4 °C 下静置 4 h 后离心 (4 000 r/min, 10 min, 4 °C),用移液枪取血清于 -80 °C 冰箱保存,用于血清生化及酶活性分析。抽血后剖取内脏团和肝脏并称重,用于计算脏体比和肝体比,肝脏于 -80 °C 保存以用于组分分析。另取侧线上方背部肌肉 10 g 于 -80 °C 冰箱保存,用于肌肉组分分析。各生长性能指标计算方法:

$$\text{存活率 (survival rate, SR, \%)} = N_t/N_0 \times 100\%$$

$$\text{增重率 (weight gain rate, WGR, \%)} = (W_t - W_0)/W_0 \times 100\%$$

$$\text{特定生长率 (specific growth rate, SGR, \% / d)} = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100\%$$

$$\text{饲料系数 (feed conversion ratio, FCR)} = W_t / (W_t - W_0)$$

$$\text{肝体比 (hepatosomatic index, HSI, \%)} = W_h / W \times 100\%$$

$$\text{脏体比 (viscerosomatic index, VSI, \%)} = W_v / W \times 100\%$$

$$\text{肥满度 (condition factor, CF, g/cm}^3\text{)} = W/L^3 \times 100$$

表 1 实验饲料配方及营养组成(干物质)

Tab. 1 Ingredients and proximate nutrient compositions of experimental diets (dry)

项目 items	饲料中氯化胆碱添加量/(mg/kg) dietary choline chloride supplementations				
	0 (对照组)	700	1 400	2 100	2 800
<b>原料/% ingredients<sup>1</sup></b>					
鱼粉 fish meal	42	42	42	42	42
谷朊粉 wheat gluten meal	3	3	3	3	3
喷雾干燥血粉 spray dried blood powder	4	4	4	4	4
虾粉 shrimp meal	5	5	5	5	5
发酵豆粕 fermented soybean meal	9	9	9	9	9
玉米蛋白粉 corn gluten meal	11	11	11	11	11
鱿鱼膏 squid paste	2	2	2	2	2
啤酒酵母粉 beer yeast	2	2	2	2	2
$\alpha$ -淀粉 $\alpha$ -starch	8	8	8	8	8
豆油 soybean oil	4	4	4	4	4
大豆磷脂油 soybean lecithin	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
维生素混合物(除胆碱) V-mix <sup>2</sup>	1	1	1	1	1
矿物质混合物 M-mix <sup>3</sup>	1	1	1	1	1
三氧化二铬 Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
磷酸二氢钙 Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1	1	1	1	1
沸石粉 zeolite	4	3.93	3.86	3.79	3.72
氯化胆碱 choline chloride	0	0.07	0.14	0.21	0.28
合计 total	100	100	100	100	100
<b>营养组成 proximate nutrient composition</b>					
胆碱/(mg/kg) choline	2 369.57	2 716.90	2 993.49	3 443.60	3 799.05
粗脂肪/% crude lipid	9.86±0.01	9.97±0.07	10.02±0.05	9.87±0.10	9.81±0.03
粗蛋白质/% crude protein	50.71±0.16	50.72±0.31	50.91±0.35	50.40±0.16	50.72±0.44
水分/% moisture	4.12±0.12	4.14±0.05	4.01±0.17	4.15±0.08	4.06±0.07
灰分/% ash	15.70±0.03	15.59±0.06	15.64±0.10	15.38±0.05	15.50±0.05

注: 1. 饲料原料由浙江欣欣天恩水产饲料股份有限公司提供; 其中鱼粉、谷朊粉、血粉、虾粉、发酵豆粕和玉米蛋白粉粗蛋白质含量分别为 67.44%、76.56%、45.99%、61.72%、51.62% 和 63.01%; 2. 维生素预混料购自于广州市联鲲生物科技有限公司, 其为每千克饲料含有(mg/kg 饲料)维生素 A 10 000 IU, 维生素 B<sub>1</sub> 30, 维生素 B<sub>2</sub> 60, 维生素 C 800, 盐酸吡多醇 20, 维生素 B<sub>12</sub> 0.1, 生物素 2.5, 维生素 D<sub>3</sub> 2 000 IU, 维生素 E 160 IU, 甲萘醌 40, 叶酸 10, 肌醇 100, 烟酸 200, 泛酸钙 100; 3. 矿物质预混料为每千克饲料含有 (g/kg 饲料) FeC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.181, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.09, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.932, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.432, AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.051, ZnCl<sub>2</sub> 0.08, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.063, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.031, KI 0.028, CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.006, NaSeO<sub>3</sub>·3H<sub>2</sub>O 0.000 8

Notes: 1. Ingredients were purchased from Zhejiang Xinxin Tianen Aquatic Feed Co., Ltd., and crude protein levels of fish meal, wheat gluten meal, spray dried blood powder, shrimp meal, fermented soybean meal and corn gluten meal was 67.44%, 76.56%, 45.99%, 61.72%, 51.62% and 63.01%, respectively. 2. V-mix were purchased from Guangzhou Haicheng Stall Food Co., Ltd., contains (mg/kg of diet): VA 10 000 IU, VB<sub>1</sub> 30, VB<sub>2</sub> 60, VC 800, pyridoxine HCl 20, VB<sub>12</sub> 0.1, biotin 2.5, VD<sub>3</sub> 2 000 IU, VE 160 IU, menadione 40, folic acid 10, inositol 100, niacin 200, calcium pantothenate 100; 3. mineral mix (g/kg diet) contains FeC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.181, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.09, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.932, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.432, AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.051, ZnCl<sub>2</sub> 0.08, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.063, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.031, KI 0.028, CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.006, NaSeO<sub>3</sub>·3H<sub>2</sub>O 0.000 8

式中,  $N_t$  为实验鱼终末尾数,  $N_0$  为初始尾数,  $W_t$  为终末体质量 (g),  $W_0$  为初始体质量 (g),  $t$  为实验天数 (d),  $W_f$  为摄入饲料量 (g),  $W_h$  为鱼肝脏重 (g),  $W_v$  为鱼内脏重 (g),  $W$  为鱼体质量 (g),  $L$  为鱼体长 (cm)。

**饲料和鱼体组成常规营养成分测定** 实验饲料、肌肉和肝脏的粗蛋白质含量采用凯氏定氮法测定 (GB/T 6432—2018); 灰分采用 550 °C 马弗炉灼烧法检测 (GB/T 6438—2007), 粗脂肪含量采用氯仿-甲醇法<sup>[20]</sup> 测定; 饲料和肌肉水分含量采用 105 °C 恒温干燥法测定 (GB/T 5009.3—2003); 肝脏水分采用 -46 °C 真空冷冻干燥法 (TP-FD-1 冷冻干燥机), 冷冻干燥 72 h 至恒重。

**饲料中胆碱含量测定:** 饲料中胆碱含量的测定参考雷氏盐分光光度法 (GB/T 5413.20—2013)<sup>[21]</sup>。称取适量样品 (约含 5~50 mg 胆碱), 置于 250 mL 磨口锥形瓶中, 加入 50 mL 氢氧化钡-甲醇-三氯甲烷提取液, 为避免结块, 边加边摇; 然后将锥形瓶放置于 (74±2) °C 恒温水浴回流 4 h, 取出冷却, 样品过滤至 100 mL 容量瓶中, 然后用甲醇定容至刻度; 吸取 5 mL 提取液加到色谱柱 (弗罗里硅土填充) 中, 使提取液依靠重力作用通过色谱柱; 先后用 5、10 mL 甲醇洗涤色谱柱, 待甲醇通过色谱柱后, 加入 20 mL 乙酸甲酯, 加入 5 mL 雷纳克铵盐饱和溶液 (现用现配), 待雷纳克铵盐完全通过色谱柱后, 用冰乙酸洗涤至流出液清亮为止。用丙酮洗脱粉红色的胆碱雷纳克铵盐, 收集于 10 mL 的容量瓶中, 用丙酮定容, 在 526 nm 波长处测定其吸光度。按照上述操作步骤, 用 1 mg/mL 胆碱标准液绘制标准曲线。

**血清生化指标** 血清样品在 4 °C 下解冻后采用南京建成生物工程研究所试剂盒, 按照试剂盒说明书测定丙二醛 (MDA)、溶菌酶 (LZM)、总胆固醇 (T-CHO) 含量、碱性磷酸酶 (AKP)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性、总抗氧化物能力 (T-AOC)、谷丙转氨酶 (ALT) 活性和谷草转氨酶 (AST) 活性。

#### 1.4 数据处理

实验结果用平均值±标准误 (mean±SE) 表示, 数据采用 SPSS22.0 软件进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 并采用 Duncan 氏法进行多重比较检验,  $P < 0.05$  表示差异显著。采用双折线回归分析法<sup>[22]</sup>, 计算大口黑鲈幼鱼对饲料中胆碱的最佳需求量。

## 2 结果

### 2.1 饲料中胆碱实际含量的测定

采用雷氏盐分光光度法对饲料中胆碱含量进行测定, 以胆碱酒石酸氢盐为胆碱标准品, 以溶液中胆碱含量为横坐标, 吸光值 (波长 526 nm) 为纵坐标绘制标准曲线 (图 1)。测定各组实验饲料的胆碱含量分别为 2 369.57、2 716.90、2 993.49、3 443.60 和 3 799.05 mg/kg 饲料。

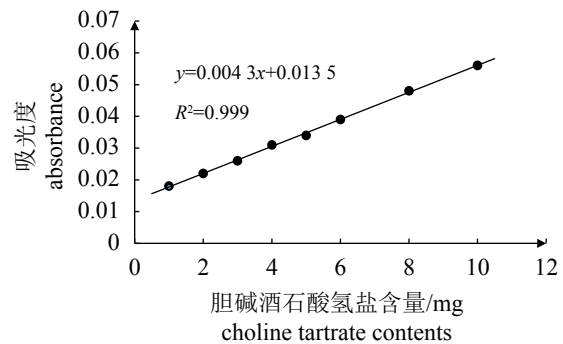


图 1 胆碱含量测定标准曲线

Fig. 1 Standard curve for determination of choline content in samples

### 2.2 饲料中添加氯化胆碱对大口黑鲈幼鱼生长性能的影响

随着饲料中氯化胆碱添加量的提高, 实验鱼 WGR 和 SGR 呈先升后降趋势。在氯化胆碱添加量为 2 100 mg/kg 组, 实验鱼 WGR 和 SGR 达到最大且显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 饲料中氯化胆碱的添加量也显著影响实验鱼的 FCR, 添加量在 1 400 和 2 100 mg/kg 组的 FCR 显著低于对照组和 700 mg/kg 组 ( $P < 0.05$ ); 饲料中氯化胆碱的添加量对实验鱼的 SR、VSI 和 HSI 无显著影响 ( $P > 0.05$ ) (表 2)。

### 2.3 饲料中添加氯化胆碱对大口黑鲈幼鱼肌肉和肝脏成分的影响

大口黑鲈幼鱼肌肉脂肪含量随饲料中氯化胆碱添加量的提高呈先降后升趋势, 氯化胆碱添加量为 2 100 mg/kg 组鱼体肌肉脂肪含量最低, 且显著低于对照组和 700 mg/kg 饲料组 ( $P < 0.05$ ); 饲料中添加氯化胆碱的各实验组鱼体肌肉粗蛋白质含量均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 饲料中氯化胆碱添加量的变化对实验鱼肌肉中水分和灰分含量无显著影响 ( $P > 0.05$ ) (表 3)。

鱼体肝脏水分和粗蛋白质含量随着饲料中氯

表 2 饲料中添加氯化胆碱对大口黑鲈幼鱼生长性能的影响

Tab. 2 Effect of dietary choline superpermentations on growth performances of juvenile *M. salmoides*

项目 items	饲料中氯化胆碱添加量/(mg/kg) dietary choline chloride supplementations				
	0 (对照组)	700	1 400	2 100	2 800
存活率/% SR	91.67±7.64	95.00±5.00	98.33±2.89	95.00±5.00	95.00±5.00
初始体质量/g IBW	20±0.11	20±0.08	20±0.13	20±0.07	20±0.14
终末体质量/g FBW	77.67±2.78 <sup>c</sup>	84.63±1.63 <sup>b</sup>	86.91±0.83 <sup>ab</sup>	93.71±2.52 <sup>a</sup>	85.39±2.44 <sup>b</sup>
增重率/% WGR	288.33±13.88 <sup>c</sup>	323.12±8.13 <sup>b</sup>	334.54±4.15 <sup>ab</sup>	368.54±12.62 <sup>a</sup>	326.98±12.19 <sup>b</sup>
特定增长率/% SGR	2.56±0.12 <sup>c</sup>	2.72±0.06 <sup>b</sup>	2.77±0.03 <sup>ab</sup>	2.91±0.09 <sup>a</sup>	2.74±0.09 <sup>b</sup>
饲料系数/% FCR	0.86±0.09 <sup>a</sup>	0.85±0.04 <sup>a</sup>	0.75±0.04 <sup>b</sup>	0.75±0.02 <sup>b</sup>	0.83±0.04 <sup>ab</sup>
脏体比/% VSI	8.24±0.10	8.02±0.26	8.02±0.18	7.95±0.13	7.97±0.18
肝体比/% HSI	3.09±0.11	3.00±0.18	2.71±0.10	2.98±0.07	3.09±0.15
肥满度/(g/cm <sup>3</sup> ) CF	2.02±0.01	2.07±0.01	2.08±0.06	2.09±0.05	2.13±0.03

注: 同一行数值上标不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ); 下同

Notes: Values in the same row with different superscripts are significant different ( $P<0.05$ ); the same below

化胆碱添加量的增加先上升后趋于平缓, 其中水分含量在氯化胆碱添加量为 1 400、2 100 和 2 800 mg/kg 组显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 粗蛋白质含量在氯化胆碱添加量为 2 100 和 2 800 mg/kg 组显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 其余各组之间均无显著差异 ( $P>0.05$ ); 总脂肪含量随着饲料中氯化胆碱添加量的提高先降低后趋于平缓, 在添加量为 2 100 mg/kg 组达到最低, 且显著低于对照组和 700 mg/kg 组 ( $P<0.05$ ); 饲料中氯化胆碱添加量的变化对鱼体肝脏中灰分含量无显著影响 ( $P>0.05$ ) (表 3)。

#### 2.4 饲料中添加氯化胆碱对大口黑鲈幼鱼血清生化组成及酶活性的影响

随着饲料中氯化胆碱添加量的提高, 实验鱼

血清中 MDA 含量先降后趋于平缓, 氯化胆碱添加量在 1 400~2 800 mg/kg 饲料时, 各实验组 MDA 含量均显著低于对照组 ( $P<0.05$ ), 且在 2 100 mg/kg 饲料组含量最少。血清 CAT 活性随着饲料中氯化胆碱添加量的增加而上升, 当饲料中氯化胆碱添加量提高到 1 400 mg/kg 及以上, 实验鱼 CAT 活性显著上升 ( $P<0.05$ )。血清 SOD 活性和 T-AOC 随着饲料中氯化胆碱添加量的提高呈先升后趋于平缓的变化, 各氯化胆碱添加组血清 SOD 活性和 T-AOC 均显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 且在添加量为 2 100 mg/kg 饲料组达到最大值 (表 4)。鱼体 T-CHO 含量和 LZM 活性随饲料氯化胆碱添加量的增加呈先升后趋于平缓的变化, 氯化胆碱添加量为 2 100 mg/kg 饲料组鱼体血清 T-CHO 含量

表 3 饲料中添加氯化胆碱对大口黑鲈幼鱼体成分的影响

Tab. 3 Effect of dietary choline supplementations on muscular and liver compositions of juvenile *M. salmoides* %

项目 item	饲料中氯化胆碱添加量/(mg/kg) dietary choline chloride supplementations				
	0 (对照组)	700	1 400	2 100	2 800
<b>肌肉 muscle</b>					
水分 moisture	77.38±0.28	76.20±0.16	77.78±0.82	76.86±0.26	77.77±0.11
灰分 ash	1.48±0.07	1.46±0.04	1.36±0.02	1.47±0.01	1.36±0.01
总脂肪 total lipid	2.43±0.33 <sup>a</sup>	1.77±0.07 <sup>b</sup>	1.45±0.04 <sup>bc</sup>	1.04±0.52 <sup>c</sup>	1.42±0.27 <sup>bc</sup>
粗蛋白质 crude protein	18.71±0.61 <sup>b</sup>	19.50±0.81 <sup>a</sup>	19.42±0.30 <sup>a</sup>	19.59±0.07 <sup>a</sup>	19.43±0.02 <sup>a</sup>
<b>肝脏 liver</b>					
水分 moisture	72.54±0.22 <sup>b</sup>	73.57±0.31 <sup>ab</sup>	74.49±0.66 <sup>a</sup>	74.87±0.26 <sup>a</sup>	74.79±0.03 <sup>a</sup>
灰分 ash	1.47±0.03	1.44±0.05	1.49±0.10	1.47±0.07	1.44±0.21
总脂肪 total lipid	2.52±0.04 <sup>a</sup>	2.21±0.36 <sup>ab</sup>	1.93±0.04 <sup>ab</sup>	1.55±0.12 <sup>b</sup>	1.67±0.26 <sup>b</sup>
粗蛋白质 crude protein	10.21±0.11 <sup>b</sup>	11.01±0.09 <sup>ab</sup>	11.99±0.16 <sup>ab</sup>	12.53±0.08 <sup>a</sup>	12.77±0.12 <sup>a</sup>

和溶菌酶活性均最高, 显著高于对照组和 700 mg/kg 饲料组 ( $P<0.05$ ) (表 4)。鱼体血清 AKP 和 AST 随着饲料中氯化胆碱添加量的升高出现先降后趋于平缓的变化, 氯化胆碱添加量为 1 400 和 2 100 mg/kg 饲料组鱼体血清 AKP 活性显著低于对照组

和添加量 700 mg/kg 饲料组 ( $P<0.05$ ); AST 活性在添加量为 2 100 mg/kg 饲料组显著低于对照组 ( $P<0.05$ ), 其他各组之间无显著性差异 ( $P>0.05$ ); ALT 活性随着饲料中氯化胆碱添加量的升高无显著变化 ( $P>0.05$ ) (表 4)。

表 4 饲料中添加氯化胆碱对大口黑鲈幼鱼血清生化的影响

Tab. 4 Effects of dietary choline supplementations on serum biochemical indicators of juvenile *M. salmoides*

项目 items	饲料中氯化胆碱添加量/(mg/kg) dietary choline chloride supplementations				
	0 (对照组)	700	1 400	2 100	2 800
丙二醛/(mmol/L) MDA	21.73±2.37 <sup>a</sup>	17.92±1.13 <sup>ab</sup>	15.36±1.18 <sup>bc</sup>	12.28±0.23 <sup>c</sup>	13.93±1.46 <sup>bc</sup>
超氧化物歧化酶/(U/mL) SOD	59.71±1.41 <sup>d</sup>	71.91±1.79 <sup>e</sup>	82.61±1.90 <sup>ab</sup>	84.07±0.85 <sup>a</sup>	80.91±1.80 <sup>b</sup>
过氧化氢酶/(U/mL) CAT	4.81±0.12 <sup>b</sup>	5.05±0.09 <sup>b</sup>	6.10±0.36 <sup>a</sup>	6.25±0.18 <sup>a</sup>	5.90±0.21 <sup>a</sup>
总抗氧化能力/(U/mL) T-AOC	0.19±0.08 <sup>c</sup>	0.21±0.10 <sup>b</sup>	0.28±0.13 <sup>a</sup>	0.29±0.13 <sup>a</sup>	0.25±0.09 <sup>ab</sup>
总胆固醇/(mmol/L) T-CHO	5.07±0.17 <sup>b</sup>	5.86±0.14 <sup>b</sup>	6.23±0.23 <sup>ab</sup>	7.03±0.13 <sup>a</sup>	6.95±0.48 <sup>ab</sup>
溶菌酶/(μg/mL) LZM	5.70±0.24 <sup>c</sup>	6.32±0.12 <sup>bc</sup>	6.56±0.10 <sup>ab</sup>	7.47±0.25 <sup>a</sup>	6.79±0.21 <sup>ab</sup>
碱性磷酸酶/(U/L) AKP	69.52±1.63 <sup>a</sup>	62.53±3.14 <sup>ab</sup>	52.08±1.72 <sup>c</sup>	52.05±2.10 <sup>c</sup>	58.87±2.07 <sup>bc</sup>
谷丙转氨酶/(U/L) ALT	78.30±4.31	77.14±3.64	74.22±1.50	69.40±1.03	71.16±1.80
谷草转氨酶/(U/L) AST	169.65±24.06 <sup>a</sup>	130.13±24.89 <sup>ab</sup>	126.71±18.75 <sup>ab</sup>	99.91±2.86 <sup>b</sup>	106.72±12.60 <sup>ab</sup>

## 2.5 回归分析

将大口黑鲈幼鱼特定生长率相对于饲料氯化胆碱添加量和饲料胆碱含量做回归分析, 结果显示, 大口黑鲈幼鱼生长所需的饲料氯化胆碱最佳添加量为 2 112.50 mg/kg, 饲料胆碱最佳含量为 3 434.73 mg/kg (图 2)。

将大口黑鲈幼鱼肌肉总脂肪含量、肝脏总脂肪含量和血清 T-CHO 含量分别相对于饲料氯化胆碱添加量/胆碱含量做回归分析, 结果显示, 大口黑鲈幼鱼饲料中氯化胆碱添加量分别为 2 008.50、

2 138.41 和 2 144.67 mg/kg, 即饲料中胆碱含量分别为 3 443.71、3 464.19 和 3 432.09 mg/kg 时, 鱼体肌肉和肝脏脂肪含量最低, 血清 T-CHO 含量最高。因此, 从脂肪代谢角度看大口黑鲈幼鱼饲料中氯化胆碱的最佳添加量为 (2 097.19±74.87) mg/kg, 最佳饲料胆碱需求量为 (3 446.66±16.25) mg/kg (mean±SD) (图 3)。

将大口黑鲈幼鱼血清 MDA 含量、LZM 含量和 AST 活性分别相对于饲料中氯化胆碱添加量/胆碱含量做回归分析, 发现大口黑鲈幼鱼饲料中氯

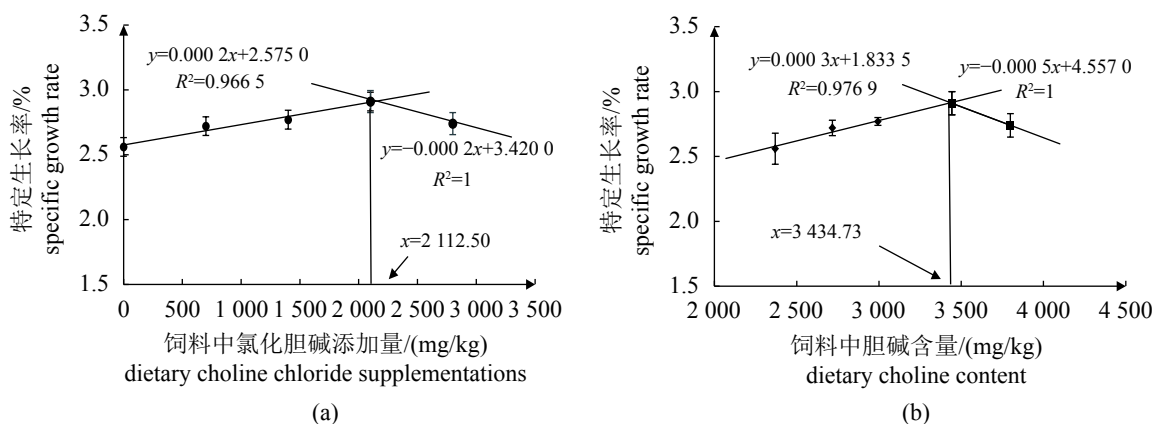


图 2 饲料氯化胆碱添加量 (a) 和胆碱含量 (b) 与大口黑鲈幼鱼特定生长率的回归分析

Fig. 2 Regression analysis of dietary choline chloride supplementation (a) and dietary choline content (b) with specific growth rate of juvenile *M. salmoides*

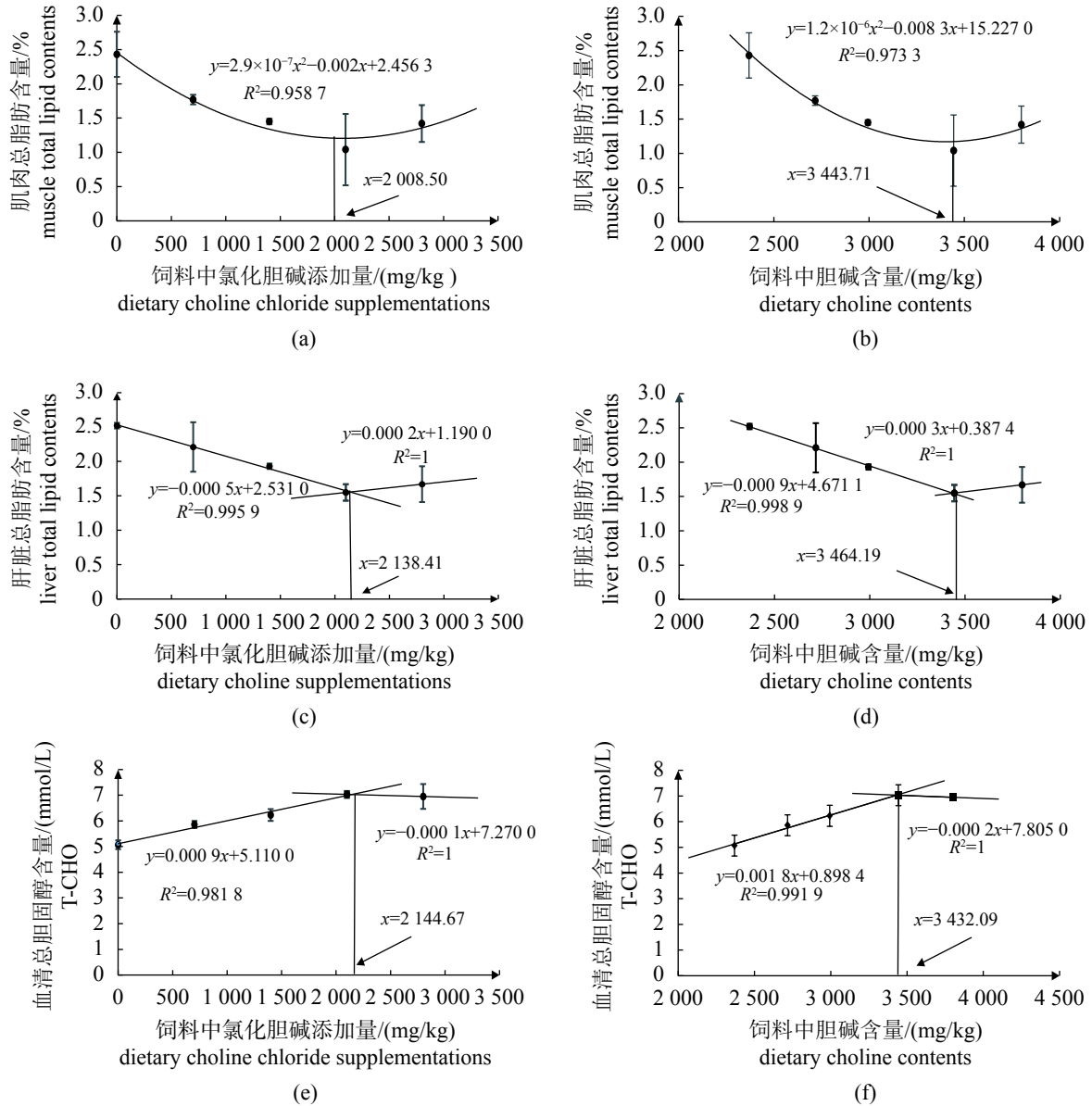


图3 饲料中氯化胆碱添加量和胆碱含量与大口黑鲈幼鱼脂肪代谢指标水平的回归分析

(a) 饲料中氯化胆碱添加量与肌肉总脂肪含量的关系；(b) 饲料中胆碱含量与肌肉总脂肪含量的关系；(c) 饲料中氯化胆碱添加量与肝脏总脂肪含量的关系；(d) 饲料中胆碱含量与肝脏总脂肪含量的关系；(e) 饲料中氯化胆碱添加量与血清总胆固醇含量的关系；(f) 饲料中胆碱含量与血清总胆固醇含量的关系

Fig. 3 Regression analysis of dietary choline chloride supplementations and dietary choline content with lipid metabolic parameters of juvenile *M. salmoides*

(a) dietary choline chloride supplementations-muscular lipid content; (b) dietary choline content- muscular lipid content; (c) dietary choline chloride supplementations-liver lipid content; (d) dietary choline content- liver lipid content; (e) dietary choline chloride supplementations-serum total cholesterol content; (f) dietary choline content- serum total cholesterol content

化胆碱添加量为 2 398.16 mg/kg (饲料胆碱含量为 3 530.23 mg/kg) 时鱼体具有最佳抗氧化能力；氯化胆碱添加量为 2 170.83 mg/kg (饲料胆碱含量为 3 459.90 mg/kg) 时鱼体具有最优抗菌能力；氯化胆碱添加量为 2 503.71 mg/kg (饲料胆碱含量为 3 583.01 mg/kg) 时鱼体肝脏损伤最小 (图 4)。

### 3 讨论

#### 3.1 饲料中添加氯化胆碱对大口黑鲈幼鱼生长性能的影响

本实验中，投喂未添加氯化胆碱的对照组饲料的大口黑鲈幼鱼在 56 d 的养殖周期后表现出最

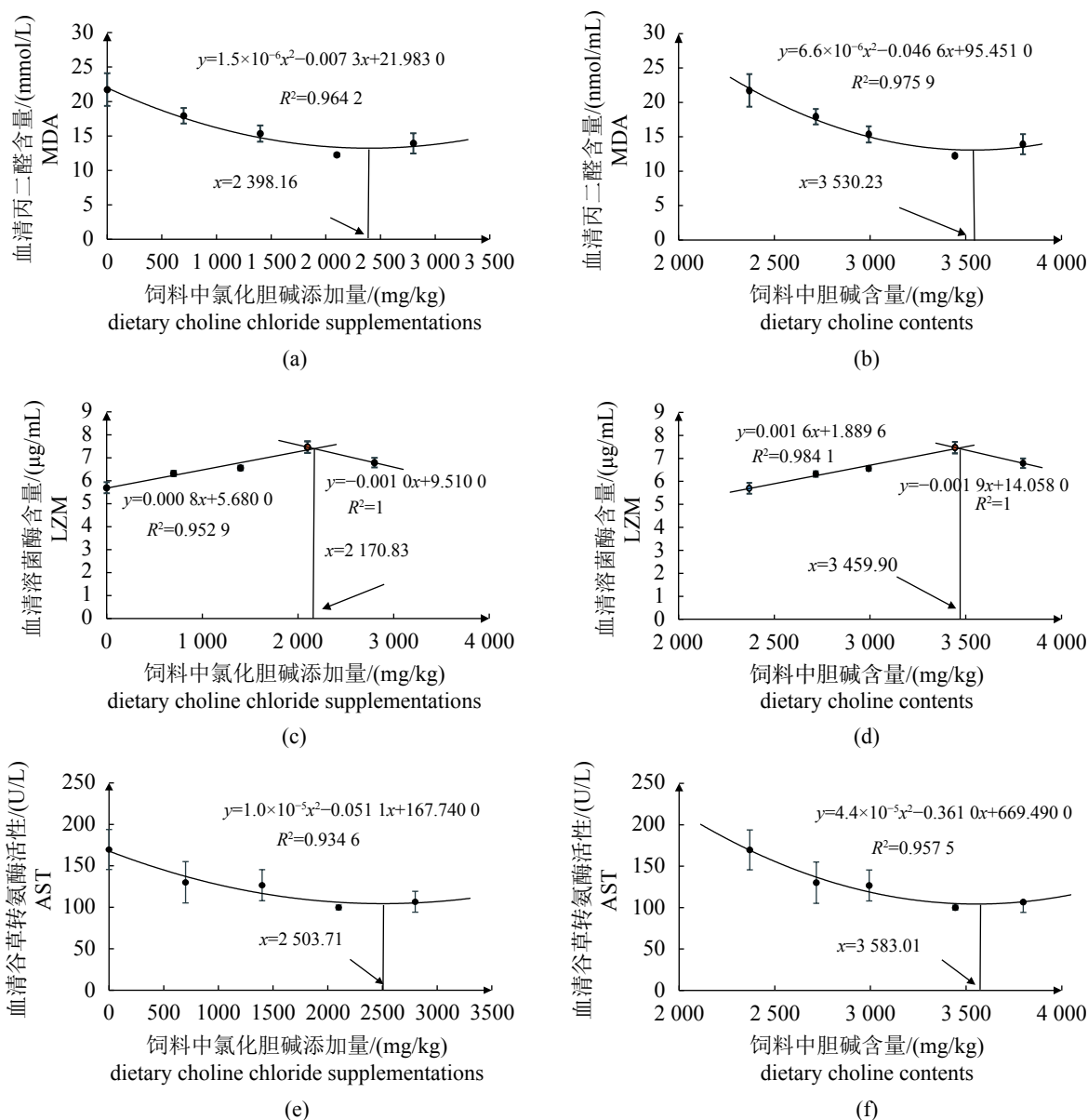


图4 饲料氯化胆碱含量和胆碱含量与大口黑鲈幼鱼血清生化指标水平的回归分析

(a) 饲料中氯化胆碱添加量与血清MDA含量的关系;(b) 饲料中胆碱含量与血清MDA含量的关系;(c) 饲料中氯化胆碱添加量与血清LZM含量的关系;(d) 饲料中胆碱含量与血清LZM含量的关系;(e) 饲料中氯化胆碱添加量与血清AST活性的关系;(f) 饲料中胆碱含量与血清AST活性的关系

Fig. 4 Regression analysis of dietary choline chloride supplementations and dietary choline contents with serum biochemical indicators of juvenile *M. salmoides*

(a) dietary choline chloride supplementations-serum malondialdehyde content; (b) dietary choline content- serum malondialdehyde content; (c) dietary choline chloride supplementations-serum lysozyme activity; (d) dietary choline content- serum lysozyme activity; (e) dietary choline chloride supplementations-serum aspartate aminotransferase activity; (f) dietary choline content- serum aspartate aminotransferase activity

小的特定生长率和最大的饲料系数,而添加氯化胆碱后其生长性能均有不同程度的提高,说明饲料中添加氯化胆碱可改善大口黑鲈的生长性能。研究表明在吉富罗非鱼(GIFT *Oreochromis niloticus*)<sup>[23]</sup>、斑点叉尾鲷<sup>[24]</sup>和日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)<sup>[25]</sup>的饲料中添加适量胆碱也可以促进其生长,

提高特定生长率,降低饲料系数,与本实验结果较为一致。胆碱促生长的主要机理是其作为甲基供体在鱼类肝脏胆碱脱氢酶作用下生成蛋氨酸和二甲甘氨酸,释放出活性甲基,参与机体的合成代谢<sup>[26]</sup>。本实验中,随着饲料中氯化胆碱添加量的增加,大口黑鲈幼鱼的饲料系数显著下降,



同时肌肉和肝脏中的蛋白质含量得到提高,说明补充胆碱提升了大口黑鲈幼鱼对饲料营养物质的利用效率、节约了对蛋氨酸用于甲基供体的消耗、提高了大口黑鲈幼鱼对饲料中蛋白质等营养物质的利用效率、增强了肌肉对蛋白质的蓄积能力,从而达到促进生长的效果。但随着饲料中氯化胆碱添加量的继续增大,大口黑鲈幼鱼增重率和特定生长率出现下降,在斑点叉尾鲷<sup>[19]</sup>、奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus*♂×*O. aureus*♀)<sup>[27]</sup>、异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)<sup>[28]</sup>和锯齿倒刺鲃(*Spinibarbus denticulatus*)<sup>[29]</sup>的研究中也有类似结果。推测由于饲料中过量胆碱加重了机体代谢负载,影响肝脏转运,造成机体脂类代谢紊乱,甚至影响到其他物质代谢能力,降低机体对饲料营养物质的利用<sup>[30]</sup>。已有研究证实饲料中胆碱过量会引起畜禽类副交感神经过度兴奋的中毒反应并影响畜禽的生产性能<sup>[31]</sup>。本实验中投喂胆碱含量过高的饲料引起大口黑鲈幼鱼生长性能降低的现象是否属于胆碱中毒症状还需作深入研究。

通过对饲料中胆碱含量与大口黑鲈幼鱼特定生长率的回归分析,大口黑鲈幼鱼最佳生长所需的饲料胆碱含量为 3 434.73 mg/kg。同样以生长性能为指标,体质量 314.7 g 的草鱼<sup>[32]</sup>最适饲料胆碱需求量为 4 184 mg/kg,体质量 0.12 g 的虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[33]</sup>最适饲料胆碱水平为 4 000 mg/kg,体质量 0.56 g 的奥尼罗非鱼<sup>[30]</sup>最适饲料胆碱水平为 3 000 mg/kg,体质量 5.5 g 的异育银鲫<sup>[28]</sup>最适饲料胆碱水平为 2 500 mg/kg,而体质量 57.4 g 的吉富罗非鱼<sup>[34]</sup>和体质量 7.94 g 建鲤(*Cyprinus carpio* var. *Jian*)<sup>[35]</sup>的最适饲料胆碱水平分别为 625.42 和 556 mg/kg;在海水鱼类中体质量 1.22 g 的大黄鱼(*Larimichthys crocea*)<sup>[36]</sup>、体质量 16.2 g 日本花鲈(*Lateolabrax japonicus*)<sup>[36]</sup>和体质量 87.85 g 斜带石斑鱼<sup>[37]</sup>的生长最适饲料胆碱水平分别为 1 056.64、939.40 和 986.54 mg/kg。表明不同品种鱼类对胆碱的需求量有很大不同,这些差异部分由养殖条件差异引起,但从已有的数据来看大部分淡水鱼类对饲料中胆碱的需求量大于海水鱼类,淡水鱼类中草食性和肉食性鱼类对饲料中胆碱的需求量大于杂食性鱼类。

### 3.2 饲料中添加氯化胆碱对大口黑鲈幼鱼脂质代谢的影响

饲料中添加氯化胆碱显著降低大口黑鲈幼鱼肌肉和肝脏中的脂肪含量,同时显著提高血清中 T-CHO 的含量。有研究报道,在黄鳝<sup>[38]</sup>和草鱼<sup>[32]</sup>

饲料中添加适量的氯化胆碱能显著降低其肌肉脂肪含量,这与本实验结果一致。但在星斑川鲮(*Platichthys stellatus*)<sup>[39]</sup>和吉富罗非鱼<sup>[34]</sup>中肌肉脂肪含量与饲料中胆碱含量呈正相关,而奥尼罗非鱼<sup>[30]</sup>肌肉脂肪含量却不受饲料中胆碱含量的影响。至今胆碱对鱼类肌肉脂肪含量影响的机理尚无一致的结论,对此还有待进一步研究。

斑点叉尾鲷<sup>[5]</sup>、突吻红点鲑(*Salvelinus namaycush*)<sup>[40]</sup>和奥尼罗非鱼<sup>[28]</sup>随着饲料中胆碱含量的增加,肝脏脂肪含量显著降低;在王道尊等<sup>[6]</sup>和 Hung<sup>[4]</sup>研究中发现随着饲料中胆碱含量的提升,实验鱼机体的肝脏脂肪含量降低,而血清中 T-CHO 含量显著增加。血清 T-CHO 是血脂的重要组成成分,其浓度可作为脂代谢的指标,脂蛋白是 T-CHO 的主要运输者<sup>[30]</sup>,而脂蛋白的合成与磷脂酰胆碱的含量密切相关,磷脂酰胆碱在鱼体内合成量减少,进而使肝脏中脂蛋白合成量减少,转运到血清中的 T-CHO 的含量也会相应降低,影响肝脏中脂肪向血液中转运,导致肝脏中脂肪大量沉积<sup>[6]</sup>。胆碱对脂肪有亲合力,可促进脂肪以磷脂形式由肝脏通过血液输送出去或改善脂肪酸本身在肝脏中的利用,防止脂肪在肝脏里的异常积聚。说明胆碱可以通过直接或间接参加鱼类肝脏脂肪的转运促进肝脏脂肪代谢从而降低肝脏脂肪含量,从而减轻脂肪在肝脏过量沉积对肝脏的损伤。同时,本实验中大口黑鲈幼鱼血清中的转氨酶活性在饲料中添加氯化胆碱后出现不同程度的下降,也证实了摄取足量胆碱可降低大口黑鲈幼鱼肝脏损伤程度。从鱼体脂肪代谢的角度分析,大口黑鲈幼鱼对饲料中氯化胆碱的适宜添加量为(2 097.19±74.87) mg/kg,饲料胆碱含量为(3 446.66±16.25) mg/kg。

### 3.3 饲料中添加氯化胆碱对大口黑鲈幼鱼血清生化组成的影响

本实验中,摄食添加氯化胆碱饲料的大口黑鲈幼鱼血清中 T-AOC 得到不同程度的提升,MDA 含量降低,SOD 和 CAT 活性显著提高。在异育银鲫<sup>[41]</sup>和团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)<sup>[42]</sup>的研究中也发现了类似结果。MDA 是脂质过氧化过程的终产物,其含量的变化是作为考察细胞受威胁程度的指标之一<sup>[43]</sup>。根据大口黑鲈血清中 MDA 含量与饲料中胆碱含量关系的回归分析,可以得出在一定的范围内,增加饲料中的氯化胆碱水平

可以提高大口黑鲈的抗氧化能力。但是当饲料中胆碱含量超过 3 530.23 mg/kg 之后, 大口黑鲈幼鱼血清中 MDA 含量出现上升的现象, 这可能是过高水平的氯化胆碱会导致机体代谢负载过重, 使抗氧化能力受到影响。

LZM 是鱼类非特异性免疫系统中重要的组成部分<sup>[44]</sup>, 与机体免疫功能密切相关。本实验中, 随着饲料中氯化胆碱添加量的增加, 大口黑鲈幼鱼血清中 LZM 活性显著增加。有研究表明摄食高脂肪饲料的团头鲂血清中 LZM 活性随着饲料中胆碱含量的增加也显著增加<sup>[42]</sup>。说明饲料中添加适宜的氯化胆碱可以提高鱼体的抗菌能力。这一方面可归因于胆碱可以促进鱼类免疫器官的生长和发育<sup>[45]</sup>, 另一方面, 胆碱作为乙酰胆碱合成的组分, 对于调节鱼类免疫稳态具有重要作用<sup>[46]</sup>。对血清 LZM 活性与饲料胆碱含量的回归分析显示, 大口黑鲈幼鱼最佳抗菌活性所需的饲料胆碱水平为 3 459.90 mg/kg。

ALT 和 AST 是存在于动物组织细胞中的重要转氨酶, 主要参与机体内氨基的转运, 富存于肝脏中, 其在血清中的活性是反映肝细胞受损伤程度的主要参数之一<sup>[47]</sup>。当肝脏细胞受损或通透性增大时, 大量的 ALT、AST 会释入血液, 使血清中 ALT、AST 的活性升高。本实验中, 大口黑鲈幼鱼血清中 ALT 活性和 AST 活性随着饲料中氯化胆碱添加量的增加呈现出下降的趋势。此结果与星斑川鲮<sup>[39]</sup>和中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*)<sup>[48]</sup> 等的研究结论一致, 由于适量的饲料胆碱促进了机体脂质代谢、降低了肝脏脂肪含量, 而且抗氧化能力得到提升, 从而能够减轻大口黑鲈幼鱼肝细胞受损程度。大口黑鲈幼鱼血清 AST 活性与饲料中胆碱含量的关系回归分析显示, 大口黑鲈幼鱼对饲料中胆碱的需求量为 3 583.01 mg/kg。

#### 4 小结

饲料中添加适量的氯化胆碱可以提高大口黑鲈幼鱼的生长性能, 降低肝脏中的脂肪含量、缓解脂肪肝的形成, 提高机体的抗氧化能力及抗菌能力, 减少肝细胞损伤。综合饲料中胆碱含量对大口黑鲈幼鱼生长及代谢的影响, 大口黑鲈幼鱼饲料中氯化胆碱建议添加量为 2 008.50~2 398.16 mg/kg (饲料胆碱含量为 3 432.09~3 530.23 mg/kg)。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

#### 参考文献 (References):

- [1] 朱以美. 胆碱在水产饲料中的应用研究进展[J]. 黑龙江水产, 2017(3): 34-36.  
Zhu Y M. Research progress in application of choline in aquatic feed[J]. Heilongjiang Fisheries, 2017(3): 34-36 (in Chinese).
- [2] 程汉良, 夏德全, 吴婷婷. 鱼类脂类代谢调控与脂肪肝[J]. 动物营养学报, 2006, 18(4): 294-298.  
Cheng H L, Xia D Q, Wu T T. Fatty liver and regulation of lipids metabolism in fish[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2006, 18(4): 294-298 (in Chinese).
- [3] 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.  
Yang D Q, Chen F, Ruan G L. Effect of dietary choline on the growth, tissue lipid content and activities of digestive enzymes of *Monopterus albus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2006, 30(5): 676-682 (in Chinese).
- [4] Hung S S O. Choline requirement of hatchery-produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*)[J]. Aquaculture, 1989, 78(2): 183-194.
- [5] Zhang Z, Wilson R P. Reevaluation of the choline requirement of fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and determination of the availability of choline in common feed ingredients[J]. Aquaculture, 1999, 180(1-2): 89-98.
- [6] 王道尊, 赵亮, 谭玉钧. 草鱼鱼种对胆碱需要量的研究[J]. 水产学报, 1995, 19(2): 133-139.  
Wang D Z, Zhao L, Tan Y J. Requirement of the fingerling grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) for choline[J]. Journal of Fisheries of China, 1995, 19(2): 133-139 (in Chinese).
- [7] 王且鲁, 王金林, 刘飞, 等. 饲料中添加氯化胆碱对拉萨裸裂尻鱼生长性能的影响[J]. 当代水产, 2020(4): 82-83.  
Wang Q L, Wang J L, Liu F, et al. Effects of choline chloride on growth performance of *Schizopygopsis younghusbandi* [J]. Current Fisheries, 2020(4): 82-83 (in Chinese).
- [8] 刘伟, 文华, 周俊, 等. 氯化胆碱对中华鲟幼鱼生长和生理指标的影响[J]. 水利渔业, 2007, 27(3): 91-93.  
Liu W, Wen H, Zhou J, et al. Effects of choline chloride on the growth and physiological parameters of the Chinese sturgeon *Acipenser sinensis*[J]. Reservoir Fisheries, 2007, 27(3): 91-93 (in Chinese).
- [9] 覃笛根. 二个生长阶段斜带石斑鱼胆碱需要量的研

- 究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2016.
- Qin D G. Dietary choline requirement for grouper, *Epinephelus coioides* at two growth stages[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2016.
- [10] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2020.
- Fisheries and Fisheries Administration Bureau Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, National Aquatic Technology Promotion Center, China Fisheries Society. China fishery statistical yearbook[M]. Beijing: China Agricultural Ture Press, 2020 (in Chinese).
- [11] 周兴梅, 何光伦, 许志城, 等. 棉籽蛋白源对大口黑鲈生长、体组成及健康的影响[J]. 水产学报, 2021, 45(10): 1703-1714.
- Zhou X M, He G L, Xu Z C, *et al.* Effects of cottonseed protein source on growth, body composition and health of *Micropterus salmoides*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(10): 1703-1714 (in Chinese).
- [12] Bright L A, Coyle S D, Tidwell J H. Effect of dietary lipid level and protein energy ratio on growth and body composition of largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2005, 36(1): 129-134.
- [13] 谭肖英, 刘永坚, 田丽霞, 等. 饲料中碳水化合物水平对大口黑鲈 *Micropterus salmoides* 生长、鱼体营养成分组成的影响 [J]. 中山大学学报 (自然科学版), 2005, 44(增刊. 1): 258-263.
- Tan X Y, Liu Y J, Tian L X, *et al.* The effects of dietary carbohydrate levels on the growth, nutrient composition of juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides*[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2005, 44(suppl. 1): 258-263 (in Chinese).
- [14] 连雪原, 陈乃松, 王孟乐, 等. 大口黑鲈维生素A需求量[J]. 动物营养学报, 2017, 29(10): 3819-3830.
- Lian X Y, Chen N S, Wang M L, *et al.* Dietary vitamin A requirement of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(10): 3819-3830 (in Chinese).
- [15] 袁瑞敏. 大口黑鲈饲料添加维生素 C 对其生长及抗氧化能力的影响 [D]. 广州: 中山大学, 2013.
- Yuan R M. Effects of vitamin A on the growth and antioxidant ability of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[D]. Guangzhou: Sun Yat-sen University, 2013 (in Chinese).
- [16] 谢一荣, 吴锐全, 谢骏, 等. 维生素C对大口黑鲈生长与非特异性免疫的影响[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(4): 249-254.
- Xie Y R, Wu R Q, Xie J. *et al* Effect of dietary vitamin C on growth and non-specific immunity in largemouth bass *Micropterus salmoides*[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2007, 22(4): 249-254 (in Chinese).
- [17] 李向, 华雪铭, 魏翔, 等. 饲料中维生素D3含量对大口黑鲈生长和抗氧化能力的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2021, 30(1): 94-102.
- Li X, Hua X M, WEI X, *et al.* Effects of dietary vitamin D3 on the growth and antioxidant capacity of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2021, 30(1): 94-102 (in Chinese).
- [18] Chen Y J, Liu Y J, Tian L X, *et al.* Effect of dietary vitamin E and selenium supplementation on growth, body composition, and antioxidant defense mechanism in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed oxidized fish oil[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2013, 39(3): 593-604.
- [19] Li S L, Lian X Y, Chen N S, *et al.* Effects of dietary vitamin E level on growth performance, feed utilization, antioxidant capacity and nonspecific immunity of largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2018, 24(6): 1679-1688.
- [20] Folch J, Lees M, Stanley G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, 226(1): 497-509.
- [21] 国家卫生和计划生育委员会. GB 5413.20—2013 食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- National Health and Family Planning Commission of PRC. GB 5413.20—2013 National food safety standards. Determination of choline in infant food and dairy products[S]. Beijing: Standards Press of China (in Chinese).
- [22] Robbins K R, Saxton A M, Southern L L. Estimation of nutrient requirements using broken-line regression analysis[J]. *Journal of Animal Science*, 2006, 84(suppl.): 155-165.
- [23] 邵辉, 文华, 刘伟, 等. 吉富罗非鱼成鱼胆碱的最适需要量[J]. 中国水产科学, 2013, 20(5): 1007-1014.
- Shao H, Wen H, Liu W, *et al.* Dietary choline requirements of adult GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J].

- Journal of Fishery Sciences of China*, 2013, 20(5): 1007-1014 (in Chinese).
- [24] 黄钧, 蒋伟明, 甘西, 等. 不同胆碱水平对斑点叉尾鲷幼鱼生产性能的影响[J]. *广西畜牧兽医*, 2010, 26(4): 195-197.  
Huang J, Jiang W M, Gan X, *et al.* Effects of different choline levels on production performance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*)[J]. *Guangxi Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2010, 26(4): 195-197 (in Chinese).
- [25] Arai T. How have spawning ground investigations of the Japanese eel *Anguilla japonica* contributed to the stock enhancement?[J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2014, 24(1): 75-88.
- [26] 王永利. 胆碱在水产动物中的应用研究进展[J]. *饲料研究*, 2019, 42(9): 115-117.  
Wang Y L. Research progress in application of choline in aquatic animals[J]. *Feed Research*, 2019, 42(9): 115-117 (in Chinese).
- [27] Shiau S Y, Lo P S. Dietary choline requirements of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*[J]. *The Journal of Nutrition*, 2000, 130(1): 100-103.
- [28] Duan Y, Zhu X, Han D, *et al.* Dietary choline requirement in slight methionine-deficient diet for juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2012, 18(6): 620-627.
- [29] 黄钧, 陈琴, 梁明振, 等. 倒刺鲃饲料中胆碱适宜用量实验[J]. *广西畜牧兽医*, 2012, 28(4): 201-202, 233.  
Huang J, Chen Q, Liang M Z. *et al.* Experiment on the suitable dosage of choline in the feed of *Spinibarbus denticulatus*[J]. *Guangxi Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2012, 28(4): 201-202, 233 (in Chinese).
- [30] 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.  
Huang K, Yang H K, Gan H, *et al.* Effects of diet-supplemental choline on fatty liver pathological changes in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2007, 14(2): 257-262 (in Chinese).
- [31] 马维英, 卢立志, 雒秋江. 胆碱在家禽生产中的研究与应用[J]. *中国家禽*, 2012, 34(23): 43-45, 49.  
Ma W Y, Lu L Z, Luo Q J. Research and application of choline in poultry production[J]. *China Poultry*, 2012, 34(23): 43-45, 49 (in Chinese).
- [32] 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.  
Zhu R J, Li X Q, Xie J, *et al.* Effects of dietary supplemental choline chloride on growth performance and lipid deposition and activities of lipid metabolism enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2010, 17(3): 527-535 (in Chinese).
- [33] Poston H A. Response of rainbow trout to soy lecithin, choline, and autoclaved isolated soy protein[J]. *The Progressive Fish-Culturist*, 1991, 53(2): 85-90.
- [34] 吴金平, 刘伟, 蒋明, 等. 大规模吉富罗非鱼幼鱼对饲料中胆碱的需要量[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(1): 256-264.  
Wu J P, Liu W, Jiang M, *et al.* Dietary choline requirement of large size juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28(1): 256-264 (in Chinese).
- [35] Wu P, Feng L, Kuang S Y, *et al.* Effect of dietary choline on growth, intestinal enzyme activities and relative expressions of target of rapamycin and eIF4E-binding protein2 gene in muscle, hepatopancreas and intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *Jian*)[J]. *Aquaculture*, 2011, 317(1-4): 107-116.
- [36] 程镇燕. 大黄鱼和鲈鱼对几种水溶性维生素营养需求及糖类营养生理的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.  
Cheng Z Y. Requirement of several water-soluble vitamins and nutritional physiology of carbohydrate in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) and Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010 (in Chinese).
- [37] 覃镇根, 董晓慧, 谭北平, 等. 饲料胆碱含量对斜带石斑鱼生长性能、体成分、肝脏胆碱含量及脂肪代谢酶活性的影响[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(12): 3812-3820.  
Qin D G, Dong X H, Tan B P, *et al.* Effects of dietary choline content on growth performance, body composition, and choline content and lipid metabolism enzyme activities in liver of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(12): 3812-3820 (in Chinese).
- [38] 陈芳, 杨代勤, 阮国良, 等. 黄鳍对饲料中胆碱的需要量[J]. *大连水产学院学报*, 2004, 19(4): 268-270.

- Chen F, Yang D Q, Ruan G L, *et al.* Choline requirement of ricefield eel *Monopterus albus*[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2004, 19(4): 268-270 (in Chinese).
- [39] 帅继祥, 张利民, 王际英, 等. 星斑川鲈幼鱼胆碱需求量的研究[J]. *水生生物学报*, 2011, 35(2): 365-371.
- Shuai J X, Zhang L M, Wang J Y, *et al.* Dietary choline requirement for juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, 35(2): 365-371 (in Chinese).
- [40] Ketola H. Choline metabolism and nutritional requirement of lake trout (*Salvelinus namaycush*)[J]. *Journal of Animal Science*, 1976, 43(2): 474-477.
- [41] 李红霞, 刘文斌, 李向飞, 等. 饲料中添加氯化胆碱、甜菜碱和溶血卵磷脂对异育银鲫生长、脂肪代谢和血液指标的影响[J]. *水产学报*, 2010, 34(2): 292-299.
- Li H X, Liu W B, Li X F, *et al.* Effects of dietary choline-chloride, betaine and lysophospholipids on the growth performance, fat metabolism and blood indices of crucian carp (*Carassais auratus gibelio*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(2): 292-299 (in Chinese).
- [42] 张定东, 李俊怡, 王冰柯, 等. 胆碱对高脂胁迫的团头鲂肝脏抗氧化、组织结构和免疫力的影响[J]. *水产学报*, 2017, 41(3): 438-447.
- Zhang D D, Li J Y, Wang B K, *et al.* Effects of choline on hepatic antioxidant status, ultrastructure and innate immunity in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fed high-fat diet[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(3): 438-447 (in Chinese).
- [43] Livingstone D R. Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture[J]. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 2003, 154(6): 427-430.
- [44] Ackerman P A, Iwama G K, Thornton J C. Physiological and immunological effects of adjuvanted *Aeromonas salmonicida* vaccines on juvenile rainbow trout[J]. *Journal of Aquatic Animal Health*, 2000, 12(2): 157-164.
- [45] Tocher D R, Bendiksen E Å, Campbell P J, *et al.* The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish[J]. *Aquaculture*, 2008, 280(1-4): 21-34.
- [46] Andersson U, Tracey K J. Reflex principles of immunological homeostasis[J]. *Annual Review of Immunology*, 2012, 30: 313-335.
- [47] Salvatore F, Roda A, Sacchetti L. *Clinical biochemistry in hepatobiliary diseases*[M]. Springer Berlin Heidelberg, 1989.
- [48] 齐霁, 陈立侨, 孙盛明, 等. 不同磷脂水平下中华绒螯蟹幼蟹的胆碱需要量[J]. *中国水产科学*, 2013, 20(2): 372-379.
- Qi J, Chen L Q, Sun S M, *et al.* Dietary choline requirements of juvenile Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* at two dietary phospholipid levels[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2013, 20(2): 372-379 (in Chinese).

## Effect of dietary choline level on growth performance, body composition and serum antioxidant activity of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*)

ZHOU Yue<sup>1</sup>, WANG Weilong<sup>1,2,3</sup>, LI Songlin<sup>1,2,3</sup>, LÜ Hongyu<sup>1</sup>,  
ZHANG Song<sup>4</sup>, CHEN Naisong<sup>1,2,3</sup>, HUANG Xuxiong<sup>1,2,3\*</sup>

(1. Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition (CREEFN) of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. Guangzhou Nutriera Biotechnology Co., Ltd. Guangzhou 511483, China)

**Abstract:** An experiment was conducted to investigate the effects of dietary choline content on growth performance, body composition, and serum antioxidant activity of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. Graded choline chloride levels of 0 (control group), 700, 1 400, 2 100 and 2 800 mg/kg were supplemented to basal diet to formulate five isonitrogen and isoenergy practical diets containing choline of 2 369.57, 2 716.90, 2 993.49, 3 443.60 and 3 799.05 mg/kg, respectively. Each diet was randomly assigned to triplicate cages of 20 fish with an initial average weight of (20.00±0.10) g for 56 days. The results showed that the weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) of the fish first increased and then decreased with the increase of dietary choline chloride, and reached the maximum when the dietary supplementation was 2 100 mg/kg, which were significantly higher than those of the control group. The survival rate (SR), hepatopancreas somatic index (HSI), viscera somatic index (VSI), and condition factor (CF) of the fish were not significantly affected by dietary choline chloride supplementation. When the dietary choline chloride supplementation reached 2 100 mg/kg or above, the lipid contents in muscle and liver of the fish were significantly decreased than those in control. Compared with the control group, the total antioxidant capacity, superoxide dismutase and catalase activities were significantly increased and the content of malondialdehyde in serum was significantly decreased in the groups which were supplemented with 1 400, 2 100 and 2 800 mg/kg choline chloride. The maximum of lysozyme activity and minimum of aspartate aminotransferase activity appeared in the group treated with dietary choline chloride of 2 100 mg/kg, which were significantly different from those of the control group. All these results indicated that the suitable dietary choline chloride supplementation could significantly improve growth performance, reduce liver fat content, and enhance the serum's antioxidant capacity. Regression analysis showed that the recommended amount of choline chloride in the practical diet of juvenile largemouth bass was 2 008.50-2 398.16 mg/kg (the dietary choline content was 3 432.09-3 530.23 mg/kg).

**Key words:** *Micropterus salmoides*; choline content; growth performance; lipid content; antioxidant capacity; lysozyme activity

**Corresponding author:** HUANG Xuxiong. E-mail: xxhuang@shou.edu.cn

**Funding project:** China Agricultural Research System (CARS-46)