

文章编号: 1000 - 0615(2003)06 - 0564 - 06

甜菜碱促进淡水白鲢生长的机制

陆清儿, 李行先, 李忠全

(杭州市水产科学研究所, 浙江 杭州 310024)

摘要: 以淡水白鲢为试验对象, 研究并探讨了盐酸甜菜碱促进淡水白鲢生长的机制。试验结果表明, 盐酸甜菜碱能促进淡水白鲢生长, 降低饲料系数, 提高饲料利用率; 在生理上, 能提高血清中 T_3 、胰岛素及血清白蛋白的含量, 极显著降低血清中尿素氮的含量; 组织切片图显示: 甜菜碱可使小肠绒毛和微绒毛高度、密度及分布均匀度明显提高, 对肝细胞超微结构无不良影响。试验结果提示: 甜菜碱使 T_3 和胰岛素分泌增加, 通过神经 - 内分泌水平调控机体代谢活动, 实现其促进生长等功能, 还使消化道形态产生有益的变化。

关键词: 淡水白鲢; 生长; 盐酸甜菜碱

中图分类号: S963 **文献标识码:** A

Growth-promoting mechanism by betaine hydrochloride in *Collossoma brachypomum*

LU Qing-er, LI Xing-xian, LI Zhong-quan

(Hangzhou Institute of Aquatic Science Research, Hangzhou 310024, China)

Abstract: This research was conducted to approach growth-promoting mechanism by betaine hydrochloride in *Collossoma brachypomum* fingerlings with average initial weight 83.14 ± 15.36 g during October to December, 1997. The fish was fed for 60d under the conditions of circulation, filtration and controlled temperature. The results of rearing indicated that betaine hydrochloride obviously enhanced fish growth, decreased food conversion rate and improved feed efficiency; physiologically, betaine hydrochloride increased the levels of T_3 and insulin, increased the albumin content; betaine hydrochloride decreased the urine nitrogen (UN) concentration significantly. The figure of tissue slices showed that betaine hydrochloride improved villas and microvilli length, density and the distribution uniformity of duodenum. Betaine hydrochloride had no bad effects on supermicro-structure of live cell. The results of this research implicated that betaine hydrochloride increases the secreting of thyroxine (T_3) and insulin and regulates the metabolism of organism by the hormones. Thus it prompts fish growth. It also improved intestine figuration.

Key words: *Collossoma brachypomum*; growth; betaine hydrochloride

20 世纪 40 年代以来, 人们开始尝试把甜菜碱用作饲料添加剂饲养家禽, 发现它对动物体内甲基代

收稿日期: 2002-09-12

资助项目: 浙江省重点攻关项目(952023A)

作者简介: 陆清儿(1962 -), 女, 浙江慈溪人, 高级工程师, 硕士, 从事水产饲料和营养研究。Tel: 0571 - 87647710, E-mail: luqing@
mail.hz.zj.cn

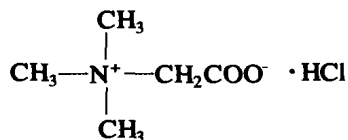
谢有显著的营养调控作用^[1,2];20世纪70年代芬兰科学家完成了由甜菜糖中提取甜菜碱的技术,发现了甜菜碱及其盐酸盐在水产饲料上独特的诱食作用并使之作为诱食剂在水产上得以应用。近年来,欧美一些国家相继在畜禽生产中进行了大量的研究,证实了甜菜碱是动物机体内重要的甲基供体,参与氨基酸和脂肪代谢,具有促进生长,改善胴体组成、提高肉质等功效^[3-5]。甜菜碱及其盐酸盐用作水产经济动物的饲料添加剂研究,除了在其诱食效应方面有些较为详尽的基础研究,同时对其促生长效果有些应用研究外^[6],对水生经济动物的抗脂肪肝、渗透调节及抗应激等方面有零星报道^[7-10],但迄今就其对水生动物的促生长,改善肉质及作用机理等方面仍缺乏系统的、科学的研究。

本试验就盐酸甜菜碱对淡水白鲢促进生长的机制进行探讨,以期为盐酸甜菜碱在淡水白鲢及其他鱼类和水生经济动物上的应用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

盐酸甜菜碱(纯度 $\geq 97\%$)由浙江农业大学饲料科学研究所提供,其结构式为:



试验鱼为杭州市下沙养殖场培育的淡水白鲢(学名短盖巨脂鲤)鱼种,平均初体重为 $83.14 \pm 15.36 \text{ g}$ 。

试验饲料配方及其营养成分实测值见表1。

试验共设6组,各组在粗蛋白水平为41.03%(以白鱼粉为主要蛋白原料)的基础饲料中分别添加0.01%、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%的盐酸甜菜碱。

1.2 试验方法

1.2.1 养殖试验

养殖试验于1997年10月26日-12月26日在室内循环流水过滤水族箱(100cm \times 50cm \times 50cm)中进行,每组设3个重复(即3个箱),每箱放养淡水白鲢鱼种11尾,计198尾。饲养管理方法如下:水源为用硫代硫酸钠曝气除氯后的自来水,在控温、循环过滤、充氧条件下养殖,试验期间平均水温 $26.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、溶解氧 $5.5 \sim 7.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH 7.0 ± 0.1 、COD $9.37 \sim 13.72 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{NH}_3\text{-N}$ $0.025 \sim 0.375 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,养殖期间,每周用 NaHCO_3 和 NaCl 合剂进行1次水体消毒,每天早、晚两次吸污、换水,换水量每次每箱1/3。

适应性驯养为期两周,放养前,试验鱼和水体用 NaHCO_3 和 NaCl 合剂消毒。试验期间,每组3个重复投喂相同饲料,按鱼体重的3%确定日投饲量(视水质、摄食情况而定,尽量以吃完为度),每天上午9:00,下午4:00分两次投喂,投饲后1h吸除剩饵,烘干后称重,每10天调整一次投饲量,每天记录投饲量、剩饵量,观察水质,鱼活动状况。实验期为60d。

1.2.2 取样与分析

试验结束后,停饲24h,从添加0.01%、0.2%、0.4%、0.6%和0.8%盐酸甜菜碱6个水平组的每个重复中随机抽取9尾,每组27尾,共162尾鱼,进行称重、采血、解剖。其余的鱼称重后供整鱼分析用。

血清三碘甲腺原氨酸(T_3)、四碘甲腺原氨酸(T_4)、胰岛素(INs)测定采用放射免疫法在PACKARD8500型 γ -计数器上测定,试剂盒由中国同位素公司北方免疫技术研究所提供。血清常规生

表1 试验饲料配方及其营养成分

Tab.1 Nutrients and composition of experimental diet

原料 ingredients	配比% contents	营养成分实测值 nutrients	
白鱼粉 white fishmeal	40	水分% Moi	10.81
α -淀粉 α -starch	8	粗蛋白% CP	41.03
豆饼 soybean cake	10	粗脂肪% EE	2.95
标准粉 wheat flour	32	灰分% ash	18.91
酵母 yeast	5	钙% Ca	2.65
玉米蛋白粉 corn protein meal	2	磷% P	1.39
骨粉 bone meal	1	其他% others	22.26
多维 vitamins	0.5		
多矿 minerals	1.5		
赖氨酸 Lys	0.2		
胆碱 choline	0.2		

化指标分析采用宁波慈城生化试剂厂的试剂盒在 CHEM-5 半自动生化分析仪上测定。组织切片的制作普通石蜡切片采用 H-E 染色法;电镜切片制作是从活体中取肝脏和十二指肠,用戊二醛和锇酸双重固定,磷酸缓冲液漂洗,系列丙酮脱水,树脂包埋,超薄切片,醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色,然后 JEL-1200EX 电镜观察。

1.3 数据处理

数据统计与分析使用 SAS 6.03 版(SAS Institute Inc,1988)。

2 试验结果

2.1 盐酸甜菜碱对生长性能和饲料利用率的影响

盐酸甜菜碱对淡水白鲢平均尾增重、日增重、摄食量和饲料系数的影响列于表 2。

表 2 盐酸甜菜碱梯度添加对淡水白鲢生长性能和饲料利用率的影响
Tab.2 Effects of betaine hydrochloride on growth and feed efficiency in *Colossoma brachypomum*

	对照组 control group	盐酸甜菜碱(%) betaine hydrochloride				
		0.1	0.2	0.4	0.6	0.8
始重(g) initial weight	77.85 ± 4.96	80.44 ± 8.79	96.22 ± 9.14	77.04 ± 3.96	72.33 ± 1.93	94.93 ± 6.42
终重(g) final weight	135.00 ± 13.71	146.08 ± 3.53	165.89 ± 5.01	137.63 ± 1.19	131.03 ± 4.43	153.41 ± 7.53
平均尾增重(g) average weight gain	57.15 ± 0.64a	61.93 ± 0.25b	69.66 ± 4.13c	60.59 ± 2.18a	58.69 ± 2.74a	58.48 ± 2.06a
日增重(g) daily weight gain	0.95 ± 0.01a	1.03 ± 0.01b	1.16 ± 0.07c	1.01 ± 0.04a	0.98 ± 0.05a	0.97 ± 0.03a
日摄食量(g) feed intake	2.64 ± 0.03	2.50 ± 0.05	2.58 ± 0.07	2.55 ± 0.10	2.51 ± 0.14	2.66 ± 0.11
饲料系数 FCR	2.77 ± 0.03a	2.43 ± 0.05c	2.23 ± 0.10c	2.52 ± 0.05c	2.56 ± 0.03c	2.73 ± 0.05a

注:同行右上角标有 a 表示差异不显著, b 表示差异显著($P < 0.05$), c 表示差异极显著($P < 0.01$), 以下同

Notes: Letter a in the same line show insignificant difference ($P > 0.05$), b show significant difference ($P < 0.05$), c show very significant difference ($P < 0.01$), the following is the same

由表 2 可见,不同剂量的盐酸甜菜碱均不同程度地提高了淡水白鲢的平均尾增重和日增重。0.2% 添加量组,平均增重和日增重分别较对照组提高了 21.89% ($P < 0.01$) 和 22.11% ($P < 0.01$); 0.1% 添加量组,分别提高了 8.36% ($P < 0.05$) 和 8.42% ($P < 0.05$); 其它剂量组与对照组差异不显著。

盐酸甜菜碱对日摄食量无明显影响。除 0.8% 添加组与对照组差异不显著外,0.2%、0.1%、0.4% 和 0.6% 添加组分别较对照组下降了 19.49%、12.27%、9.03% 和 7.58% ($P < 0.01$)。

2.2 盐酸甜菜碱对血清生化指标的影响

由图 1 可见,在 0.2%、0.1% 和 0.4% 盐酸甜菜碱组,淡水白鲢血清中 T_3 含量分别提高了 10.53% ($P < 0.01$)、9.65% ($P < 0.01$) 和 8.77% ($P < 0.05$); 胰岛素含量分别提高了 74.39% ($P < 0.01$)、67.07%

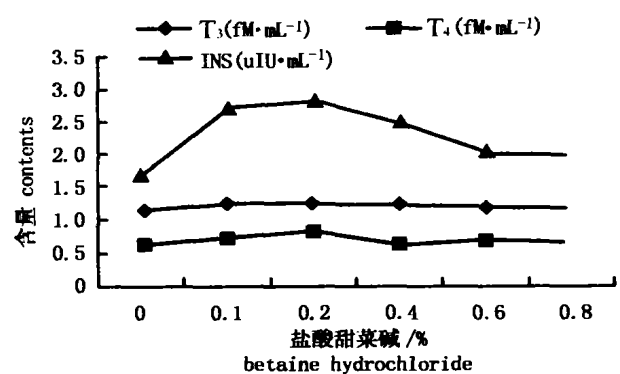


图 1 盐酸甜菜碱对淡水白鲢血清 T_3 、 T_4 及 INS 含量的影响

Fig.1 Effects of betaine hydrochloride on the T_3 , T_4 and insuline contents in serum of *Colossoma brachypomum*

($P < 0.01$)及 52.44% ($P < 0.05$);添加甜菜碱虽使 T_4 的含量有升高趋势,但与对照组无差异。

表 3 甜菜碱对淡水白鲟其他血清生化指标影响

Tab.3 Effects of betaine hydrochloride on bio-chemical parameters of serum of *Colossoma brachypomum*

	对照组 control group	盐酸甜菜碱(%) betaine hydrochloride				
		0.1	0.2	0.4	0.6	0.8
总蛋白 TP($g \cdot L^{-1}$)	34.34 ± 8.80	28.55 ± 6.19	36.33 ± 6.89	34.28 ± 6.36	31.69 ± 3.49	31.20 ± 4.82
白蛋白 Alb($g \cdot L^{-1}$)	7.40 ± 0.55a	10.08 ± 1.36b	6.88 ± 1.65a	7.51 ± 2.36a	7.36 ± 0.95a	9.58 ± 2.20a
尿素氮 UN($mg \cdot dl^{-1}$)	3.90 ± 0.60a	2.38 ± 0.73c	2.81 ± 1.02b	1.91 ± 0.93c	1.60 ± 0.76c	1.75 ± 0.98c
谷丙转氨酶 GPT($IU \cdot L^{-1}$)	24.63 ± 2.02	23.77 ± 2.13	24.93 ± 2.14	23.62 ± 1.59	23.84 ± 1.31	23.97 ± 0.93
谷草转氨酶 GOT($IU \cdot L^{-1}$)	88.68 ± 14.34	66.92 ± 32.09	66.94 ± 22.20	71.16 ± 25.68	75.69 ± 23.16	76.01 ± 20.40

由表 3 可见,在 0.1% 组,淡水白鲟血清白蛋白升高了 36.22% ($P < 0.05$),其余各组同对照组均无显著差异;在 0.1%、0.2%、0.4%、0.6% 及 0.8% 组,血清尿素氮分别显著下降了 38.97% ($P < 0.01$)、27.95% ($P < 0.05$)、51.03% ($P < 0.01$)、58.97% ($P < 0.01$) 及 55.13% ($P < 0.01$);血清总蛋白、谷丙转氨酶和谷草转氨酶指标无明显差异。

2.3 盐酸甜菜碱对组织结构的影响

对照组和添加盐酸甜菜碱组鱼肝脏细胞超微结构正常,细胞核完整无损,细胞器分布均匀。甜菜碱有使鱼肝细胞线粒体增大、增多的现象(图版-1,2)。

添加 0.2% 盐酸甜菜碱使十二指肠绒毛高度、密度和分布均匀度均较对照组明显改善(图版-3,4)。

进一步对十二指肠微绒毛形态结构透射电镜观察,发现添加盐酸甜菜碱使小肠微绒毛增高、增多,且均匀一致(图版-5~8)。

3 讨论和结论

3.1 甜菜碱对血清生化指标的影响

试验组淡水白鲟血清白蛋白的升高和尿素氮的下降,表明甜菜碱具有增加体氮,减少氨基酸分解和排泄,促进蛋白质沉积的功能。

血清 T_3 、 T_4 、INS 测定结果表明:添加盐酸甜菜碱显著提高了血清 T_3 和胰岛素水平($P < 0.05$),而 T_4 虽有提高趋势,但与对照组无显著差异,说明甜菜碱也对鱼体神经-内分泌系统产生了影响。甲状腺可促进细胞分化和组织器官的发育,在神经、肌肉和骨的正常发育中起作用,其效应可能是由于增强生长激素(GH)和生长素介质(IGF-1)的作用所引起。它对蛋白质代谢的影响是在小剂量下可促进蛋白质的合成。 T_3 和 T_4 的许多生理效应通过合成特殊蛋白或增加酶活性和含量来实现,即通过基因表达完成。其作用机制可概括为:甲状腺素-核受体-增加酶的合成,即血液中游离 T_3 和 T_4 进入细胞,在胞浆中 T_4 可生成 T_3 ,而细胞核上存在其所必需的受体。它在细胞内发生的效应包括:使 mRNA 和 RNA 聚合酶增加,蛋白质合成作用增强,合成新的核糖体,氨基酸的摄取量增加等,并使线粒体增大及新的线粒体的形成,且在线粒体上出现了 T_3 受体。这些效应与本研究前述的 RNA 和 RNA/DNA 升高及蛋白质合成代谢加强的结果相符。肝脏组织切片初步观察结果发现:甜菜碱有使肝细胞线粒体增多和增大的现象,又从另一侧面证实了甜菜碱能促进机体 T_3 、 T_4 分泌增加。胰岛素能促进蛋白质合成,抑制蛋白质分

解。肌肉组织在胰岛素作用下释放氨基酸减少,细胞外液中的氨基酸加速进入细胞,并促进氨基酸活化与 tRNA 结合,同时加强 mRNA 的生成和翻译,使肌蛋白和其他蛋白合成增加。另外,生长激素对蛋白质合成作用需胰岛素存在才能表现出来,表明胰岛素对它们起着允许作用。本试验同时还发现甜菜碱使肝脏和肌肉 RNA 和 RNA/DNA 比率增加^[11]及血清 SUN 下降,体氮贮留增加,蛋白质合成加强等,证实了甜菜碱促进胰岛素分泌的事实。可见,甜菜碱也通过对神经-内分泌系统的作用,调控机体代谢,从而实现其促进生长等功能。

3.2 甜菜碱对消化道组织切片的影响

阎希柱等^[12]报道,饲料中添加适量甜菜碱使罗非鱼肝胰脏和肠道蛋白酶和淀粉酶升高,并认为甜菜碱在鱼摄食时促进鱼类的嗅觉和味觉,刺激消化液分泌,提高各种消化酶活性、加快分解消化饲料、胃肠道蠕动加强,摄食时间缩短,机械性消化加强。本研究十二指肠石蜡切片结果表明:甜菜碱使十二指肠绒毛高度、密度和分布均匀度明显改善,进一步对十二指肠微绒毛形态结构透射电镜观察表明:甜菜碱使小肠微绒毛明显增高,增多而且均匀一致。这些结果初步定性、定量地说明了甜菜碱对消化管形态产生了积极的影响,由此促进鱼对饲料的消化吸收,提高饲料转换率,继而促进生长,这与饲养试验中鱼采食时间缩短,饲料系数下降,解剖试验中胃重比、肠重比增高等结果一致^[13]。

3.3 结论

(1)甜菜碱可提高淡水白鲢平均尾增重、日增重,降低饲料系数;(2)甜菜碱可使淡水白鲢血清 T₃ 和胰岛素升高,白蛋白含量升高,血清尿素氮极显著降低;(3)甜菜碱可使淡水白鲢十二指肠绒毛高度、密度和分布均匀度明显提高,对肝细胞超微结构无不良影响。

本文承上海水产大学李思发教授、蔡完其教授审阅,余霞奎同志帮助整理图片,谨致谢忱!

参考文献:

- [1] Finkelstein J D, Mudd S H. Trans-sulfuration in mammals: the methionine-sparing effect of cysteine[J]. *Biol Chem*, 1965, 242: 873 - 880.
- [2] Saunderson L C, Mackinlay J. Changes in body weight, composition, and hepatic enzyme activities in response to dietary methionine, betaine, and choline levels, in growing chicks[J]. *British J Nutr*, 1990, 63: 339 - 349.
- [3] Lowry K R, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Efficacy of betaine relative to choline as a dietary methyl donor[J]. *Poultry Sci*, 1987, 66: 135 - 140.
- [4] Cera K R, Schinckel A P. Carcass and performance responses to feeding betaine in pigs [J]. *Anim Sci*, 1995, 73(Suppl. 1): 82(Abs).
- [5] Smith J W, Nelsen J L, Goodband R D, et al. The effect of supplementation growing-finishing swine diets with betaine and (or) choline on growth and carcass characteristics[J]. *J Anim Sci*, 1995, 73(Suppl. 1): 83(Abs).
- [6] Yan X Z. Studies on attraction and growth promoting of betaine on common carp[J]. *Feed Research*, 1996, (11): 8 - 9. [阎希柱. 甜菜碱对鲤鱼诱食促生长的研究[J]. *饲料研究*, 1996, (11): 8 - 9.]
- [7] Virtanen E, Junnil M, Soivio A. Effects of food containing betaine/amino acid additive on the osmotic adaptation of young Atlantic salmon, *Salmo salar* L[J]. *Aquac*, 1989, 83(1 - 2): 109 - 122.
- [8] Duston J. Effects of dietary betaine and sodium chloride on seawater adaptation in Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology A Comparative Physiology*, 1993, 105: 4, 673 - 677.
- [9] Tatsuzawa H, Takizawa E. Changes in lipid and fatty acid composition of *Pavlova lutheri*[J]. *Phytochemistry*, 1995, 40: 2, 397 - 400.
- [10] Cong Y Y, Zhang J X. The application of betaine in aquaculture[J]. *China Feed*, 1998, (17): 13 - 15. [丛玉艳, 张建训. 甜菜碱在水产养殖中的应用[J]. *中国饲料*, 1998, (17): 13 - 15.]
- [11] Lu Q E, Li Z Q, Li X X. Effects of betain on methyl transfer function and protein synthesis of *Colossoma brachypomum*[J]. *J Fish Sci China*, 2003, 10(3): 216 - 221. [陆清儿, 李忠全, 李行先. 盐酸甜菜碱对淡水白鲢蛋白质代谢的影响[J]. *中国水产科学*, 2003, 10(3): 216 - 221.]
- [12] Yan X Z, Qiu L Q. Effect of dietary betaine on the activities of protease and amylase in *Tilapia nilotica*[J]. *J Fish Sci China*, 1997, 4(1): 88 - 92. [阎希柱, 邱岭泉. 饲料中添加甜菜碱对尼罗罗非鱼蛋白酶、淀粉酶活性的影响[J]. *中国水产科学*, 1997, 4(1): 88 - 92.]

- [13] Lu Q E, Li Z Q, Zhou X Y. Effects of betaine hydrochloride on growth, the dissection property and meat quality of *Collossoma brachypomum* [J]. J Ocean Zhejiang Univ(Natural Science), 2001,20(suppl):130-136.[陆清儿,李忠全,周向阳.盐酸甜菜碱对淡水白鲟生长性能、鱼体解剖特性和肉质的影响[J].浙江海洋学院学报(自然科学版),2001,20(增刊):130-136.]

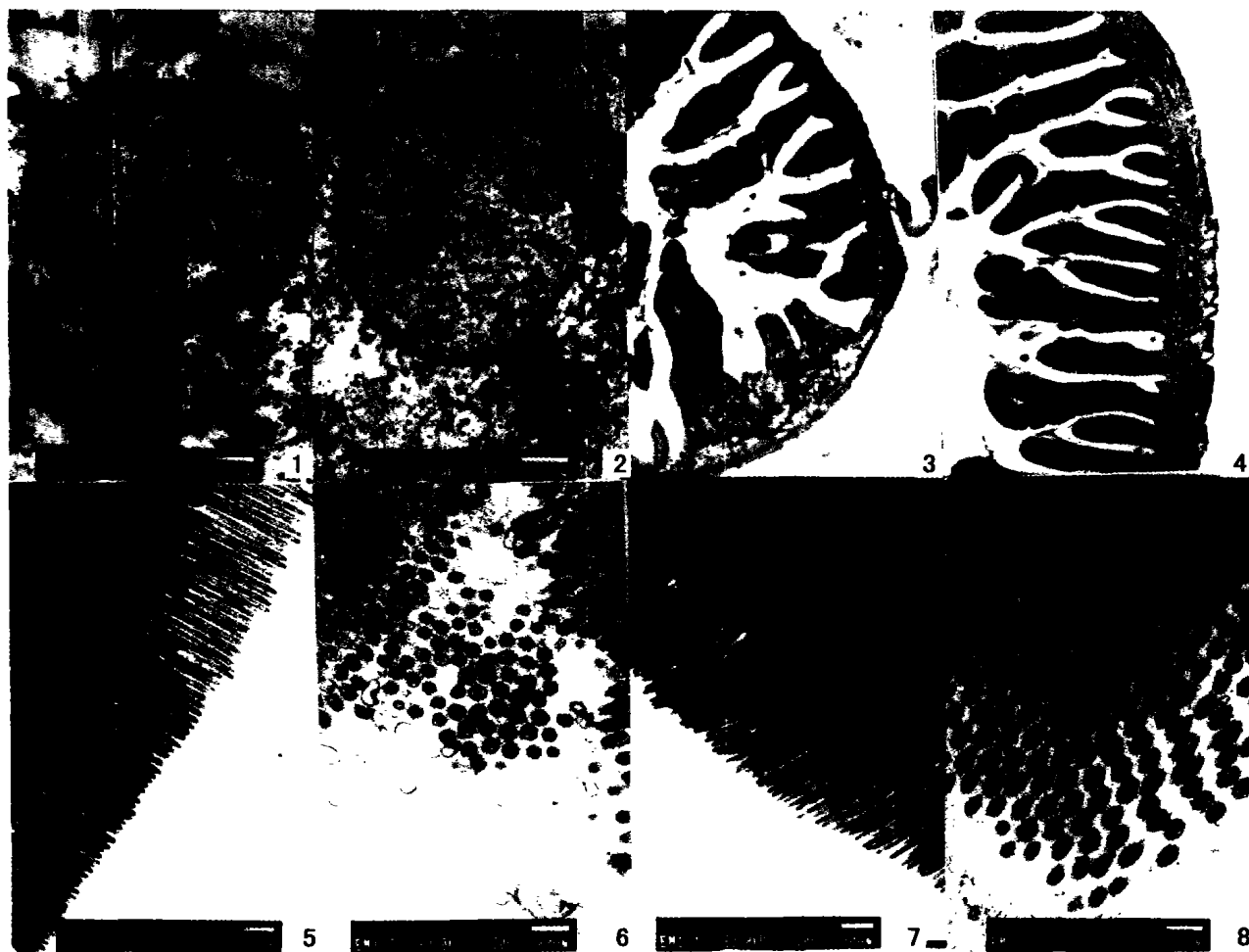


图 版 说 明 Explanation of Plate

1. 对照组淡水白鲟肝脏超微结构电镜切片;2. 0.2% 盐酸甜菜碱组淡水白鲟肝脏超微结构电镜切片;3. 对照组淡水白鲟十二指肠普通石蜡切片;4. 0.2% 盐酸甜菜碱组淡水白鲟十二指肠普通石蜡切片;5. 对照组淡水白鲟小肠微绒毛长度;6. 对照组淡水白鲟小肠微绒毛密度;7. 0.2% 盐酸甜菜碱组淡水白鲟小肠微绒毛长度;8. 0.2% 盐酸甜菜碱组淡水白鲟小肠微绒毛密度

1. transmission electron micrographs of supermicro-structure of liver cell of *C. brachypomum* in control group; 2. transmission electron micrographs of supermicro-structure of liver cell of *C. brachypomum* in 0.2% betaine hydrochloride group; 3. paraffin slices of duodenum of *C. brachypomum* in control group; 4. paraffin slices of duodenum of *C. brachypomum* in 0.2% betaine hydrochloride group; 5. transmission electron micrographs of *C. brachypomum* in control group, showing microvilli length; 6. transmission electron micrographs of *C. brachypomum* in control group, showing microvilli density; 7. transmission electron micrographs of *C. brachypomum* in 0.2% betaine hydrochloride group, showing microvilli length; 8. transmission electron micrographs of *C. brachypomum* in 0.2% betaine hydrochloride group, showing microvilli density