

文章编号: 1674-5566(2026)01-0096-09

DOI: 10.12024/jsou.20250404845

低盐条件下饲料氯化胆碱对凡纳滨对虾生长、抗氧化能力和能量代谢的影响

余秋然¹, 徐畅², 韩凤禄², 黄茂贤³, 李二超¹

(1. 华东师范大学 生命科学学院, 上海 200241; 2. 海南大学 海洋生物与水产业学院, 海南 海口 570228; 3. 百洋投资集团股份有限公司技术中心, 广西 南宁 530006)

摘要: 为探讨低盐条件下, 饲料中添加不同水平的氯化胆碱对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)生长、健康和代谢的影响, 设定在盐度为3和海水条件下, 分别添加2 500、5 000和10 000 mg/kg的氯化胆碱, 进行为期8周的养殖实验。结果显示, 在低盐环境下, 将饲料氯化胆碱添加量从2 500 mg/kg提升至10 000 mg/kg, 并未对凡纳滨对虾的生长性能(如增重率、存活率等)产生显著促进作用($P>0.05$)。2 500和5 000 mg/kg氯化胆碱组的凡纳滨对虾粗脂肪含量显著高于10 000 mg/kg组($P<0.05$)。此外, 饲料中添加5 000 mg/kg氯化胆碱显著降低了血清和肝胰腺中的葡萄糖含量($P<0.05$), 而10 000 mg/kg氯化胆碱组显著增强了肝胰腺超氧化物歧化酶活性, 提升了抗氧化能力($P<0.05$)。同时, 高水平氯化胆碱(10 000 mg/kg)显著降低了肝胰腺中的甘油三酯含量($P<0.05$)。研究表明, 在盐度3条件下, 2 500 mg/kg的氯化胆碱添加已能满足凡纳滨对虾的生长需求, 而更高剂量的添加($\geq 5 000$ mg/kg)则在调节脂质代谢和增强抗氧化能力方面发挥更显著的作用。这些发现为优化凡纳滨对虾在低盐养殖模式下的营养策略提供了科学依据。

关键词: 凡纳滨对虾; 低盐条件; 氯化胆碱; 生长性能; 抗氧化能力

中图分类号: S 968.22 **文献标志码:** A

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)是广盐性对虾品种, 能够在盐度0.5~50.0的水环境中生长^[1-2], 因此, 其淡化养殖模式发展迅速。然而, 低盐环境常导致其存活率和抗逆性下降, 制约了产业发展^[3-4]。因此, 探索有效缓解低盐胁迫的营养策略对于该产业的可持续发展至关重要。为应对挑战, 越来越多的研究集中在通过营养调控来缓解低盐应激, 提升凡纳滨对虾的生长表现和健康状态。例如, 特定的营养素如氨基酸、维生素和矿物质的补充被证明可以改善低盐环境下的生理功能, 增强抗氧化能力和免疫反应能力^[5]。在这些营养策略中, 胆碱作为一种重要的营养素, 通过调节细胞膜结构和功能, 改善渗透压平衡, 从而有效提高凡纳滨对虾在低盐环境下的生存和生长表现。

盐度作为关键环境因子, 可通过影响生理生

化过程来制约水生生物生长繁衍^[6]。为适应外界渗透压的剧烈变化, 水生动物需启动复杂渗透调节机制, 其中低盐胁迫下维持细胞与生理功能稳定的核心机制包括调节细胞膜结构及关键离子转运酶活性^[7]。胆碱作为磷脂酰胆碱的前体, 可增强细胞膜的流动性和稳定性, 保护细胞膜不受低盐条件引起的损伤, 对细胞膜的结构和功能至关重要, 还能通过转化为甜菜碱等有机渗透物, 提高细胞的渗透保护能力, 保护细胞结构和功能不受损害^[8]。此外, 胆碱能够通过调节离子通道和转运蛋白的活性, 影响离子的进出, 进一步稳定细胞内的离子浓度和渗透压^[9]。如胆碱可以增强 Na^+/K^+ -ATP酶的活性, 影响细胞内外钠和钾离子的浓度梯度, 从而参与渗透压调节^[10]。研究表明, 半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)鳃中胆碱含量升高可促进机体对低盐环境的耐受能力^[11]。

收稿日期: 2025-04-21 修回日期: 2025-09-10

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFD2402000)

作者简介: 余秋然(1996—), 男, 博士研究生, 研究方向为水生动物营养生理学。E-mail: yu974985801@126.com

通信作者: 李二超, E-mail: ecl@bio.ecnu.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

此外,在低盐环境中,水生动物需要更多的能量来维持生命活动。胆碱可以影响甘油三酯和胆固醇的代谢并为水生动物提供能量,从而缓解因低盐引起的生理压力。因此,在低盐条件下,胆碱对于水生动物而言不仅有助于维持膜的结构和功能,还是调节细胞体积和离子平衡、保持生理稳定的关键因素,这对于凡纳滨对虾等水生生物的健康生长和存活至关重要。尽管有研究显示饲料中添加 600 mg/kg 的胆碱能提高日本对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 的渗透压耐受性^[12],但关于低盐条件下凡纳滨对虾的胆碱需求尚未明确。现有研究表明,在正常海水条件下(盐度 30~33)添加胆碱能促进凡纳滨对虾的生长和抗氧化能力^[16],但在低盐条件下的相关研究仍不足。

本研究探究在固定的低盐(盐度 3)条件下,饲料中梯度添加的氯化胆碱(2 500, 5 000, 10 000 mg/kg)对凡纳滨对虾生长性能、抗氧化能力和能量代谢的剂量-效应关系,以期为该品种在低盐养殖模式下的精准营养调控提供科学依据。

1 材料与方法

本研究中的所有动物护理和处理程序均按照中国实验动物护理和使用指南进行。该研究获得华东师范大学动物护理专业委员会(编号 f20190101)批准。

1.1 实验饲料

本实验所用饲料以酪蛋白和明胶为蛋白质来源,以鱼油、大豆油、卵磷脂和胆固醇为脂肪来源,同时添加复合维生素与复合矿物质预混料,制备成 3 组等氮等脂的半纯化饲料(含约 36.44% 的粗蛋白和约 7.42% 的粗脂肪)。以甜菜碱、L-谷氨酸、L-丙氨酸和甘氨酸组成的氨基酸预混料[生工生物工程(上海)股份有限公司]作为诱食剂^[13],并在饲料中添加 0.005% 的丁基化羟基甲苯(BHT)以防止脂肪氧化。所有干性原料用粉碎机粉碎后过 60 目筛网,原料采取逐级扩大法充分混合后再加入脂肪源混合均匀。每千克饲料通过添加 α -纤维素来补足。依据先前研究中发现 2 822 mg/kg 氯化胆碱对虾类的生长、代谢和抗氧化能力具有显著作用^[16],在饲料中分别添加 2 500、5 000 和 10 000 mg/kg 氯化胆碱[NO.

A600299,生工生物工程(上海)股份有限公司]。各组需要准确称量所需氯化胆碱,完全溶解于含有 300 mL 蒸馏水的烧杯,均匀洒入饲料后再用少量蒸馏水反复冲洗烧杯,最后添加蒸馏水至原饲料混合物加水量达到 300 mL/kg。按分子量换算胆碱基团占 74.6%,因此 3 处理日粮中额外提供的胆碱分别约为 1 865、3 730 和 7 460 mg/kg。同时结合公开数据库估算,基础配方原料共带入约 400 mg/kg 胆碱且在各处理间保持一致。因此,3 种饲料中胆碱的估算有效量约为 2 265、4 130 和 7 860 mg/kg。饲料原料经搅拌机搅拌均匀,用双螺杆挤压机(CD4-ITS extruder,广州华工光电科技有限公司,中国)制成粒径为 2 mm 的颗粒饲料,挤压温度 < 50 °C。饲料颗粒在室温下风干至水分 < 10%,过 40 目筛网后存储在 -20 °C 冰箱。基础饲料组成见表 1。

1.2 实验动物与饲养管理

凡纳滨对虾购自海南文昌某虾苗场,养殖实验前暂养在室内的水泥池中,分别于每天 07:00、12:00 和 18:00 投喂商品饲料。每天更换约四分之三的沙滤海水。暂养 3 周后,虾苗转移至玻璃钢桶继续暂养,一部分桶通过注入曝气自来水逐级降低海水盐度。前期盐度每天降低 6,降至 15 时,每天降低 3,直至降至 3。为降低盐度突变造成的虾苗应激,每天分早中晚 3 次下降盐度。盐度降至 3 后,保持盐度不变继续暂养 3 d,待虾苗稳定后分组实验。分组前暂停投喂,一共挑选 360 尾质量(0.38±0.02)g 的健康虾(其中海水组 90 尾,盐度 3 组 270 尾),随机分配到 12 个圆柱形玻璃钢桶中,每个桶装有 100 L 水。每组有 3 个平行(桶),每桶 30 尾虾。海水组投喂添加 2 500 mg/kg 氯化胆碱的饲料,3 盐度组分别投喂添加 2 500、5 000 和 10 000 mg/kg 氯化胆碱的饲料。每天投喂 3 次,投喂时间分别是 07:00、12:00 和 18:00,日投喂量约为其体质量的 5%。每投喂 30 min 和 1 h 后观察每桶的虾的摄食情况,以便调整投饵量,每天换约 60% 的海水,同时清除粪便、残饵和蜕壳。及时捞出死虾,称重并记录。养殖实验持续 8 周,实验期间采用自然光照条件,水体温度 28~30 °C, pH 7.8~8.2,溶解氧 4.8~6.4 mg/L 和氨氮浓度 < 0.05 mg/L。

表1 基础饲料组成及营养水平
Tab. 1 Ingredients and proximate composition of the basal diet

项目 Items	氯化胆碱水平 Choline chloride level/(mg/kg diet)		
	2 500	5 000	10 000
酪蛋白 Casein	340	340	340
小麦淀粉 Wheat flour	250	250	250
明胶 Gelatin	80	80	80
鱼油 Fish oil	30	30	30
豆油 Soybean oil	30	30	30
卵磷脂 Lecithin	10	10	10
胆固醇 Cholesterol	5	5	5
无胆碱维生素预混料 Choline-free vitamin premix ¹	20	20	20
矿物质预混料 Mineral premix ²	20	20	20
氨基酸混合物 Amino acid mixture ³	30	30	30
2,6-二叔丁基对甲酚 Butylated hydroxytoluene (BHT)	0.05	0.05	0.05
五水乳酸钙 Calcium (L)-lactate, pentahydrate	4	4	4
无水碳酸钙 Calcium carbonate, anhydrous	4	4	4
α -纤维素 Alpha-cellulose	174.45	171.95	166.95
氯化胆碱 Choline chloride	2.5	5	10
营养成分(%饲料) Proximate composition (% wet diet)			
水分 Moisture	9.77	9.56	9.81
粗蛋白 Crude protein	36.40	36.47	36.44
粗脂肪 Crude lipid	7.45	7.40	7.42
粗灰分 Ash	2.15	2.20	2.18

注:1. 维生素预混料(g/kg):维生素 A(500 000 IU/g) 0.480;多聚磷酸酯维生素 C(35%)35.710,叶酸 0.180,生物素 0.050;核黄素 3.000, DL-泛酸钙 5.000,盐酸吡哆辛 1.000,维生素 B 12 0.002,盐酸硫胺素 0.500,维生素 K 2.000,DL- α -生育酚乙酸酯(250 IU/g) 8.000,肌醇 5.000,烟酰胺 5.000,维生素 D(500 000 IU/g) 0.800,脱脂米糠 933.278;2. 矿物质预混料(g/kg):一水硫酸锌 20.585,碘酸钙 0.117,五水硫酸铜 0.625,一水硫酸锰 1.625,一水硫酸镁 39.860,氯化钴 0.010,一水硫酸亚铁 11.179,亚硒酸钠 0.025,二水磷酸氢钙 166.442,脱脂米糠 759.532;3. 氨基酸混合物(g/kg 干物质):甘氨酸 6,L-丙氨酸 6,L-谷氨酸 6,甜菜碱 12。

Notes: 1. Vitamin premix (g/kg premix): vitamin A acetate (500 000 IU/g), 0.480; L-ascorbyl-2-polyphosphate 35% Active C, 35.710; folic acid, 0.180; biotin, 0.050; riboflavin, 3.000; DL Ca-pantothenate, 5.000; pyridoxine HCl, 1.000; vitamin B12, 0.002; thiamin HCl, 0.500; Menadione, 2.000; DL-alpha-tocopheryl acetate (250 IU/g), 8.000; inositol, 5.000; nicotinamide, 5.000; vitamin D (500 000 IU/g), 0.800; defatted rice bran, 933.278; 2. Mineral premix (g/kg premix): zinc sulfate monohydrate, 20.585; calcium iodate, 0.117; cupric sulfate pentahydrate, 0.625; manganous sulfate monohydrate, 1.625; magnesium sulfate monohydrate, 39.860; cobalt chloride, 0.010; ferrous sulfate monohydrate, 11.179; sodium selenite, 0.025; calcium hydrogen phosphate dihydrate, 166.442; defatted rice bran, 759.532; 3. Amino acid mixture (g/kg of dry matter): glycine, 6; L-alanine, 6; L-glutamic acid, 6; betaine, 12.

养殖实验结束前 24 h 停止投喂。虾经冰水浴麻醉后,快速测量每只虾的体长、体质量和统计每桶虾数。每个桶中随机挑选 5 尾虾存放在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中,以便后续进行体成分分析。其余虾用 1 mL 无菌注射器从围心腔抽取血淋巴到 1.5 mL 离心管, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 静置 24 h 后以 2 500 g 离心 10 min (3 - 18KS, Sigma, 德国)。离心好的血清用 200 μL 离心管分装, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存直至生化分析。每只虾分离出的肝胰腺进行称重,然后迅速用液氮冷冻并转移至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中保存。

生长指标,包括存活率、增重率、肥满度和肝体比计算公式:

$$R_{\text{SR}} = N_f / N_i \times 100\% \quad (1)$$

$$R_{\text{WGR}} = (W_f - W_i) / W_i \times 100\% \quad (2)$$

$$I_{\text{CF}} = W_f / L_f^3 \times 100 \quad (3)$$

$$I_{\text{HSI}} = W_h / W_f \times 100\% \quad (4)$$

式中: R_{SR} 为存活率,%; R_{WGR} 为增重率,%; I_{CF} 为肥满度, g/cm^3 ; I_{HSI} 为肝体比,%。 N_i 和 N_f 分别为初始和终末虾数; W_i 和 W_f 分别为初始和终末平均体质量,g; L_f 为终末平均体长,cm; W_h 为采样时肝胰腺质量,g。

1.3 成分分析

整虾体成分和饲料的营养成分依据 AOAC 的方法和标准进行了测定^[14]。采用恒温干燥失

重法测定虾和饲料的水分,即将样品放至 105 °C 恒温箱(WFO-520,EYELA,日本)直至质量保持不变即可算出。饲料和全虾的粗蛋白含量采用杜马斯燃烧法测定(Rapid N exceed, Elementar, 德国)。粗脂肪含量测定采用索氏抽提法,石油醚为抽提的有机溶剂。饲料和全虾粗灰分采用马弗炉灰化法测定(SX2-4-10N,上海一恒科学仪器有限公司,中国)。饲料营养成分见表 1。

1.4 生化分析

每组随机抽取 9 个血清样品用于检测总蛋白、葡萄糖、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇含量。每组随机选择 9 个肝胰腺样品,称重后转移到离心管中,加入相当于肝胰腺质量 9 倍体积的冷生理盐水(1:9, w/v)进行匀浆处理,匀浆时的研磨频率设定为 60 Hz。匀浆 30 s 后,1 000 g 离心 15 min,取上清测总蛋白、葡萄糖、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇和丙二醛含量(Malondialdehyde, MDA, A003-1-1),超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD, A001-3-2)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathion peroxidase, GSH-Px, A005-1-2)、 α -淀粉酶(α -amylase, AMS, C016-1-1)、胃蛋白酶(Pepsin, A080-1-1)和脂肪酶(Lipase, LPS, A054-2-1)活性。所有试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,并按照试剂盒使用说明测定。

1.5 数据处理

实验数据首先采用 SPSS 17.0 中的箱形图分析剔除离散值。海水组的数据作为参考基准呈现,为了明确低盐环境的影响,采用独立样本 *t* 检验(Independent samples *t*-test)对海水组与低盐(盐度 3)基础组(2 500 mg/kg 氯化胆碱)的数据进行了显著性分析。本研究的核心分析旨在探究在低盐条件下,不同浓度氯化胆碱的添加效果。因此,对盐度 3 的 2 500、5 000 和 10 000 mg/kg 氯化胆碱组过滤后的数据进行单因素方差分析(One-way analysis of variance, ANOVA),若方差平齐,使用 Duncan 氏多重比较作为事后检验;若方差不齐,则使用 Welch 检验和 Games-howell 事后检验进行分析。实验结果以平均值 \pm 标准误(Mean \pm SE)表示, $P<0.05$ 表示具有显著性差异。

2 结果

2.1 生长和全虾体成分

在不同盐度条件下,饲料中添加氯化胆碱并未显著影响凡纳滨对虾的存活率、增重率、肝体比和肥满度等生长指标($P>0.05$,表 2)。在盐度 3 条件下,10 000 mg/kg 氯化胆碱组的粗脂肪含量相较于 2 500 和 5 000 mg/kg 氯化胆碱组显著降低($P<0.05$),而 2 500 mg/kg 氯化胆碱组与海水组之间无显著差异($P>0.05$,表 3)。此外,饲料中氯化胆碱添加量对凡纳滨对虾的全身粗蛋白、粗灰分和干物质含量未产生显著影响($P>0.05$,表 3)。

表 2 补充氯化胆碱对低盐条件下凡纳滨对虾生长性能的影响
Tab. 2 Effects of dietary choline chloride on growth performance of *P. vannamei* under low salinity $n=3$

项目 Items	氯化胆碱水平 Choline chloride level/(mg/kg diet)			
	2 500(海水)	2 500(盐度 3)	5 000(盐度 3)	10 000(盐度 3)
存活率 Survival rate/%	85.000 \pm 11.547	78.333 \pm 12.014	75.000 \pm 2.887	78.333 \pm 4.410
增重率 Weight gain rate/%	367.911 \pm 13.672	317.226 \pm 13.533	340.853 \pm 53.751	359.973 \pm 51.773
肝体比 Hepatosomatic index/%	3.949 \pm 0.566	3.802 \pm 0.816	4.165 \pm 0.297	4.355 \pm 0.748
肥满度 Condition factor/(g/cm ³)	0.691 \pm 0.006	0.700 \pm 0.007	0.707 \pm 0.005	0.707 \pm 0.003

2.2 血清和肝胰腺代谢物

在不同盐度条件下,饲料中添加 2 500 mg/kg 氯化胆碱对凡纳滨对虾血清中的总蛋白、葡萄糖、甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇含量无显著影响($P>0.05$,表 4)。在盐度 3 下,5 000 mg/kg 氯化胆碱组的血清葡萄糖含量显著低于 2 500 mg/kg 氯化胆

碱组($P<0.05$,表 4)。

在肝胰腺代谢物方面,不同盐度下,饲料中添加 2 500 mg/kg 氯化胆碱对凡纳滨对虾肝胰腺中的总蛋白、葡萄糖、甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇含量无显著影响($P>0.05$,表 5)。在盐度 3 下,5 000 mg/kg 氯化胆碱组肝胰腺葡萄糖含量显著低于 2 500

和 10 000 mg/kg 组 ($P>0.05$) (表 5)。此外, 盐度 3 显著高于 5 000 和 10 000 mg/kg 氯化胆碱组 ($P<0.05$) (表 5)。

表 3 补充氯化胆碱对低盐条件下凡纳滨对虾体成分的影响
Tab. 3 Effects of dietary choline chloride on whole-body composition of *P. vannamei* under low salinity $n=3$

项目 Items	氯化胆碱水平 Choline chloride level/(mg/kg diet)			
	2 500(海水)	2 500(盐度 3)	5 000(盐度 3)	10 000(盐度 3)
干物质 Dry matter/%	21.411±0.448	20.953±0.769	20.084±0.320	20.732±0.293
粗蛋白 Crude protein/%	15.148±0.30	14.891±0.564	14.099±0.154	14.321±0.148
粗脂肪 Crude lipid/%	2.630±0.123	2.742±0.036 ^b	2.809±0.092 ^b	2.425±0.051 ^a
灰分 Ash/%	3.470±0.023	3.194±0.125	3.397±0.105	3.402±0.024

注: 同行数据肩标不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Notes: Values in the same row with different superscript letters are significantly different ($P<0.05$).

表 4 补充氯化胆碱对低盐条件下凡纳滨对虾血清生化指标的影响
Tab. 4 Effects of dietary choline chloride on serum biochemical indicators of *P. vannamei* under low salinity $n=3$

项目 Items	氯化胆碱水平 Choline chloride level/(mg/kg diet)			
	2 500(海水)	2 500(盐度 3)	5 000(盐度 3)	10 000(盐度 3)
血清总蛋白含量 Serum protein/(g/L)	35.707±0.781	29.738±2.120	37.365±4.620	27.665±4.220
葡萄糖 Glucose/(mmol/L)	2.288±0.334	2.243±0.038 ^b	1.818±0.131 ^a	1.950±0.077 ^{ab}
甘油三酯 Triglyceride/(mmol/L)	0.451±0.134	0.652±0.098	0.611±0.120	0.631±0.091
总胆固醇 Total cholesterol/(mmol/L)	0.532±0.174	1.023±0.231	0.941±0.182	0.809±0.199
低密度脂蛋白胆固醇 Low-density cholesterol/(mmol/L)	0.282±0.069	0.687±0.149	0.501±0.185	0.393±0.077
高密度脂蛋白胆固醇 High-density cholesterol/(mmol/L)	0.079±0.007	0.095±0.039	0.079±0.015	0.076±0.003

注: 同行数据肩标不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Notes: Values in the same row with different superscript letters are significantly different ($P<0.05$).

表 5 补充氯化胆碱对低盐条件下凡纳滨对虾肝胰腺生化指标的影响
Tab. 5 Effects of dietary choline chloride on hepatopancreas biochemical indicators of *P. vannamei* under low salinity $n=3$

项目 Items	氯化胆碱水平 Choline chloride level/(mg/kg diet)			
	2 500(海水)	2 500(盐度 3)	5 000(盐度 3)	10 000(盐度 3)
肝胰腺蛋白含量 Hepatopancreas Protein/(g/L)	52.314±1.968	43.986±0.731	43.544±0.731	46.791±1.322
葡萄糖 Glucose/(mmol/L)	2.550±0.165	2.379±0.106 ^b	1.914±0.100 ^a	2.398±0.140 ^b
甘油三酯 Triglyceride/(mmol/g protein)	0.148±0.038	0.287±0.075 ^b	0.095±0.029 ^a	0.085±0.030 ^a
总胆固醇 Total cholesterol/(mmol/g protein)	0.103±0.010	0.104±0.004	0.096±0.011	0.106±0.009
低密度脂蛋白胆固醇 Low-density cholesterol/(mmol/g protein)	0.070±0.004	0.062±0.015	0.050±0.012	0.044±0.004
高密度脂蛋白胆固醇 High-density cholesterol/(mmol/g protein)	0.040±0.008	0.034±0.005	0.020±0.005	0.032±0.013

注: 同行数据肩标不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Notes: Values in the same row with different superscript letters are significantly different ($P<0.05$).

2.3 肝胰腺消化酶活性

在盐度 3 下, 不同氯化胆碱添加量之间的肝胰腺胃蛋白酶活性无显著差异 ($P>0.05$), 而 2 500 mg/kg 氯化胆碱组凡纳滨对虾显著高于海

水组 ($P<0.05$, 表 6)。此外, 海水组与 3 盐度组饲料中氯化胆碱的添加对凡纳滨对虾肝胰腺中的脂肪酶和 α -淀粉酶活性均无显著影响 ($P>0.05$, 表 6)。

表 6 补充氯化胆碱对低盐条件下凡纳滨对虾消化酶的影响
 Tab. 6 Effects of dietary choline chloride on hepatopancreas digestive enzyme of *P. vannamei* under low salinity

项目 Items	氯化胆碱水平 Choline chloride level/(mg/kg diet)			
	2 500(海水)	2 500(盐度 3)	5 000(盐度 3)	10 000(盐度 3)
脂肪酶 Lipase/(U/g protein)	64.183±5.095	82.349±5.887	80.956±5.585	80.345±4.299
α 淀粉酶 α-Amylase/(U/mg protein)	2.288±0.334	2.243±0.038	1.818±0.131	1.950±0.077
胃蛋白酶 Pepsin/(U/mg protein)	1.376±0.679	2.188±0.314***	1.366±0.459	1.596±0.272

注:***表示与海水组差异显著($P<0.001$)。

Notes: *** indicates an extremely significant difference compared to the seawater group ($P<0.001$).

2.4 肝胰腺 MDA 含量和抗氧化酶活性

海水组与盐度 3 下 2 500 mg/kg 氯化胆碱组相比,凡纳滨对虾肝胰腺中的 MDA 含量和 GSH-Px 及 SOD 酶活性均无显著差异($P>0.05$,表 7)。在盐度 3 下,凡纳滨对虾肝胰腺中的 MDA 含量和

GSH-Px 活性不受氯化胆碱添加量的影响($P>0.05$,表 7)。然而,SOD 酶活性在 10 000 mg/kg 氯化胆碱组中显著高于 2 500 和 5 000 mg/kg 氯化胆碱组($P<0.05$,表 7)。

表 7 补充氯化胆碱对低盐条件下凡纳滨对虾抗氧化指标的影响
 Tab. 7 Effects of dietary choline chloride on antioxidant indicators of *P. vannamei* under low salinity

项目 Items	氯化胆碱水平 Choline chloride level/(mg/kg diet)			
	2 500(海水)	2 500(盐度 3)	5 000(盐度 3)	10 000(盐度 3)
丙二醛 Malondialdehyde/(nmol/mg protein)	2.900±0.629	2.981±0.786	2.127±0.088	3.332±0.098
谷胱甘肽过氧化物酶 Glutathione peroxidase/(U/mg protein)	660.606±81.895	686.786±61.723	774.864±83.976	821.448±43.127
超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase/(mmol/g protein)	18.428±0.827	20.836±0.600 ^a	21.061±1.184 ^a	25.127±0.548 ^b

注:同行数据标不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

Notes: Values in the same row with different superscript letters are significantly different ($P<0.05$).

3 讨论

本研究发现,在盐度 3 条件下,2 500 mg/kg 的饲料氯化胆碱即可支持凡纳滨对虾正常生长,更高剂量并未带来显著的生长提升。这一结果表明,在低盐胁迫条件下,2 500 mg/kg 可能已满足其基本胆碱需求。胆碱被认为是某些水产动物的必需维生素和营养素,比如斑节对虾(*Penaeus monodon*)(6 200 mg/kg 饲料)^[13]、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)(400 mg/kg 饲料)^[15]和中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)(4 000 mg/kg 饲料)^[16]等。部分研究表明,日本对虾不需要在饲料中额外添加氯化胆碱即可获得最佳生长性能^[17],也有研究表明日本对虾饲料中胆碱最适添加量为 1 200 mg/kg^[18]。其他研究者在此基础上结合二次回归分析,表示凡纳滨对虾幼虾对饲料胆碱的最适添加量为 3 254.1~6 488.3 mg/kg^[19]。本研究中未观察到更高剂量的促生长效

应,可能与低盐环境下能量分配策略改变有关。

值得注意的是,在提供充足氯化胆碱($\geq 2 500$ mg/kg)的情况下,低盐组的生长表现与海水组无显著差异,这表明氯化胆碱有效缓解了低盐胁迫对生长的潜在抑制。低盐条件往往会造凡纳滨对虾耗费更多的能量用于渗透调节,从而显著抑制其存活率和生长发育情况^[3,20-21],提示胆碱可能通过支持渗透调节缓解了低盐胁迫。胆碱作为磷脂酰胆碱和甜菜碱的前体,可促进脂蛋白合成与细胞膜稳定,从而协助维持血淋巴渗透压稳态。这可能是其保护性作用的关键机制。

尽管对生长无显著影响,但高水平氯化胆碱显著降低了肝胰腺甘油三酯含量,10 000 mg/kg 组的全虾粗脂肪含量亦显著下降。据报道,随着饲料中胆碱添加量的增加,凡纳滨对虾尾部肌肉中的脂肪含量显著降低,但是胆碱添加量不影响对虾肝胰腺中脂肪的含量^[21],这也与斑节对虾研究中脂肪含量呈下降趋势的结果相符^[13]。对团

头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 的研究表明, 饲料胆碱虽然不影响其全身粗脂肪含量, 但胴体中的粗脂肪含量则随着饲料胆碱添加量的增加而降低^[22]。因此, 10 000 mg/kg 氯化胆碱组中对虾粗脂肪含量的降低可能与肌肉中脂肪含量降低有关。胆碱缺乏会导致肝脏脂蛋白合成量降低, 进而影响脂肪转运至血液, 使得肝脏中脂肪积累和向血液运输的脂肪减少^[23]。本研究中高剂量胆碱可能通过促进磷脂酰胆碱合成来增强脂质转运, 从而避免了肝胰腺的脂肪堆积。此外, 胆碱还可转化为甜菜碱, 激活线粒体脂肪酸氧化通路, 加速脂肪分解。然而, 本研究中血清甘油三酯未随肝胰腺 TG 下降而升高的现象提示在低盐胁迫下, 动员的脂质可能被优先用于能量供应或渗透调节, 而非沉积于肌肉组织。

在抗氧化方面, 本研究发现 2 500 mg/kg 的胆碱足以维持低盐环境下的氧化平衡, 该组对虾的肝胰腺 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量与海水组无显著差异。这与其他研究中低盐胁迫会引发氧化损伤的报道^[24-25]形成对比, 凸显了胆碱的保护作用^[26-28]。此外, 我们还观察到, 当胆碱剂量提升至 10 000 mg/kg 时, SOD 活性被进一步显著提高, 表明更高剂量的胆碱在增强抗氧化防御、预防潜在氧化应激方面具有更积极的作用。

消化功能方面, 2 500 mg/kg 胆碱组的肝胰腺胃蛋白酶活性显著高于海水组。这表明适量胆碱能通过提升蛋白质消化能力, 为对虾在低盐环境下的生长提供重要支持, 这可能是其关键的营养机制之一。葡萄糖含量则随胆碱剂量增加呈先降后升趋势, 2 500 与 5 000 mg/kg 组间差异显著。相关研究发现, 饲料中添加氯化胆碱对凡纳滨对虾血清葡萄糖无显著性影响, 但是血清葡萄糖呈现先降低再升高的趋势, 与本实验结果一致^[29]。血糖波动可能反映能量代谢的动态调整, 即低剂量促进能量利用, 高剂量或引发代谢应激, 但具体调控机制仍需深入研究。

4 结论

综上, 在盐度 3 条件下, 2500 mg/kg 的饲料氯化胆碱足以支持凡纳滨对虾的正常生长。更高剂量虽不促生长, 但能通过优化脂质代谢和抗氧化能力, 增强其低盐适应性。未来研究应聚焦于低盐条件下胆碱最适剂量的精确定义, 及其在脂

质转运、能量代谢与应激响应中的分子机制。

作者声明本文无利益冲突。

参考文献:

- [1] SAOUD I P, DAVIS D A, ROUSE D B. Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei* culture[J]. Aquaculture, 2003, 217(1/4): 373-383.
- [2] XU C, LI E, LIU Y, et al. Effect of dietary lipid level on growth, lipid metabolism and health status of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at two salinities[J]. Aquaculture Nutrition, 2018, 24(1): 204-214.
- [3] LI E C, CHEN L Q, ZENG C, et al. Comparison of digestive and antioxidant enzymes activities, haemolymph oxyhemocyanin contents and hepatopancreas histology of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at various salinities[J]. Aquaculture, 2008, 274(1): 80-86.
- [4] LIN Y C, CHEN J C. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels[J]. Aquaculture, 2003, 224(1/4): 193-201.
- [5] LI E C, WANG X D, CHEN K, et al. Physiological change and nutritional requirement of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at low salinity[J]. Reviews in Aquaculture, 2017, 9(1): 57-75.
- [6] VELASCO J, GUTIÉRREZ-CÁNOVAS C, BOTELLA-CRUZ M, et al. Effects of salinity changes on aquatic organisms in a multiple stressor context[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2019, 374(1764): 20180011.
- [7] BHOITE S, ROY R. Role of membrane lipid in osmoregulatory processes during salinity adaptation: a study with chloride cell of mud crab, *Scylla serrata*[J]. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 2013, 46(5): 287-300.
- [8] ULUS I H, WURTMAN R J, MAURON C, et al. Choline increases acetylcholine release and protects against the stimulation-induced decrease in phosphatide levels within membranes of rat corpus striatum[J]. Brain Research, 1989, 484(1/2): 217-227.
- [9] BURG M B. Molecular basis of osmotic regulation[J]. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 1995, 268(6): F983-F996.
- [10] ALESSI D R, ZHANG J W, KHANNA A, et al. The WNK-SPAK/OSR1 pathway: master regulator of cation-chloride cotransporters[J]. Science Signaling, 2014, 7(334): re3.
- [11] JIANG W W, TIAN X L, FANG Z H, et al. Metabolic responses in the gills of tongue sole (*Cynoglossus*

- semilaevis*) exposed to salinity stress using NMR-based metabolomics [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 653: 465-474.
- [12] MICHAEL F R, KOSHIO S. Effect of choline chloride as an osmoregulator as well as its role in growth and the biochemical content of postlarval kuruma shrimp; *Marsupenaeus japonicus* (Bate) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2016, 22(3): 597-605.
- [13] SHIAU S Y, LO P S. Dietary choline requirement of juvenile grass shrimp (*Penaeus monodon*) [J]. *Animal Science*, 2001, 72(3): 477-482.
- [14] AOAC. *Standard method performance requirements for Cr, Mo and Se in infant formula and adult/pediatric nutritional formula* [R]. Prescott: AOAC International, 2012.
- [15] 林仕梅, 叶元土, 罗莉, 等. 中华绒螯蟹对 VC、VE、肌醇和胆碱需要量的研究 [J]. *饲料工业*, 2000, 21(8): 21-23.
- LIN S M, YE Y T, LUO L, et al. Study on the requirement of Vitamin C, tocopherol, inositol and choline for China down pincer crab [J]. *Feed Industry*, 2000, 21(8): 21-23.
- [16] 刘铁斌, 李爱杰, 张嘉萌. 中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 维生素营养的研究-X: ——中国对虾对肌醇、氯化胆碱营养需要的研究 [J]. *青岛海洋大学学报*, 1993, 23(4): 67-74.
- LIU T B, LI A J, ZHANG J M. Studies on vitamin nutrition for the shrimp *Penaeus Chinensis*-X: studies on the choline chloride and inositol requirements in the shrimp *Penaeus chinensis* [J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 1993, 23(4): 71-78.
- [17] DESHIMARU Q, KUROKI K. Requirement of prawn for dietary thiamine, pyridoxine, and choline chloride [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1979, 45(3): 363-367.
- [18] MICHAEL F. R., TESHIMA S., KOSHIO S., ISHIKAWA M., et al. Effect of two choline sources on the performance of postlarval *Marsupenaeus japonicus* bate. *Aquaculture Nutrition*, 2007, 13(1), 59-64.
- [19] HUANG M X, DONG Y F, ZHANG Y, et al. Growth and lipidomic responses of juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* to low salinity [J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10: 1087.
- [20] ATHAMENA A, BRICHON G, TRAJKOVIC-BODENNEC S, et al. Salinity regulates N-methylation of phosphatidylethanolamine in euryhaline crustaceans hepatopancreas and exchange of newly-formed phosphatidylcholine with hemolymph [J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2011, 181(6): 731-740.
- [21] GONG H, LAWRENCE A L, JIANG D H, et al. Effect of dietary phospholipids on the choline requirement of *Litopenaeus vannamei* juveniles [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2003, 34(3): 289-299.
- [22] JIANG G Z, WANG M, LIU W B, et al. Dietary choline requirement for juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2013, 19(4): 499-505.
- [23] 杨鸿昆. 卵磷脂、胆碱和肌醇在罗非鱼脂肪肝病变中的作用机制 [D]. 南宁: 广西大学, 2006.
- YANG H K. Mechanism in tilapia's fatty liver pathological changes of lecithin, choline and inositol in the feed [D]. Nanning: Guangxi University, 2006.
- [24] WU P, LIU Y, JIANG W D, et al. A comparative study on antioxidant system in fish hepatopancreas and intestine affected by choline deficiency: different change patterns of varied antioxidant enzyme genes and Nrf2 signaling factors [J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0169888.
- [25] 鲁耀鹏, 钱坤, 汪蕾, 等. 养殖盐度对凡纳滨对虾抗氧化酶及免疫相关酶活力的影响 [J]. *河北渔业*, 2019(12): 1-5, 28.
- LU Y P, QIAN K, WANG L, et al. Effect of salinities on activities of antioxidant enzymes and immune-related enzymes of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Hebei Fisheries*, 2019(12): 1-5, 28.
- [26] ARUN S, SUBRAMANIAN P. Antioxidant enzymes in freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii* during embryonic and larval development [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 1998, 121(3): 273-277.
- [27] CAMPA-CÓRDOVA A I, HERNÁNDEZ-SAAVEDRA N Y, ASCENCIO F. Superoxide dismutase as modulator of immune function in American white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2002, 133(4): 557-565.
- [28] LIU G, ZHU S M, LIU D Z, et al. Effects of stocking density of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) on immunities, antioxidant status, and resistance against *Vibrio harveyi* in a biofloc system [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 67: 19-26.
- [29] 夏明宏. 凡纳滨对虾幼虾对生物素、烟酸、叶酸和胆碱需要量的研究 [D]. 宁波: 宁波大学, 2014.
- XIA M H. Study on the requirements of biotin, niacin, folic acid and choline for juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [D]. Ningbo: Ningbo University, 2014.

Effects of dietary choline chloride on growth, health, and metabolism of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under low-salinity

YU Qiuran¹, XU Chang², HAN Fenglu², HUANG Maoxian³, LI Erchao¹

(1. School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200241, China; 2. College of Marine Biology and Fisheries, Hainan University, Haikou 570228, Hainan, China; 3. Technology Center, Baiyang Investment Group Co., Ltd., Nanning 530006, Guangxi, China)

Abstract: This study aimed to investigate the effects of different levels of dietary choline on the growth, health, and metabolism of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under low-salinity (salinity 3) conditions compared to seawater. An 8-week feeding trial was conducted with diets containing three different levels of choline chloride: 2 500, 5 000, and 10 000 mg/kg. The results showed that under low-salinity conditions, increasing the dietary choline chloride level from 2 500 mg/kg to 10 000 mg/kg did not significantly promote the growth performance of *P. vannamei* ($P>0.05$). However, the 2 500 and 5 000 mg/kg choline group exhibited significantly higher crude lipid content in the shrimp ($P<0.05$). Additionally, the 5 000 mg/kg choline diet significantly reduced glucose levels in both serum and hepatopancreas ($P<0.05$), while the 10 000 mg/kg choline group showed a significant increase in hepatopancreatic superoxide dismutase activity, enhancing antioxidant capacity ($P<0.05$). Moreover, a high level of choline (10 000 mg/kg) significantly decreased the triglyceride content in the hepatopancreas ($P<0.05$). The study concludes that a dietary choline chloride supplementation of 2 500 mg/kg is sufficient to meet the growth requirements of *P. vannamei* at a salinity of 3. However, higher dosages ($\geq 5 000$ mg/kg) play a more significant role in regulating lipid metabolism and enhancing antioxidant capacity. These findings provide a scientific basis for optimizing nutritional strategies for *P. vannamei* in low-salinity aquaculture.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; low-salinity; choline; growth performance; antioxidant capacity