

牛磺酸对半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis*) 亲鱼繁殖性能及仔鱼质量的影响*

赵敏^{1,2} 梁萌青^{1①} 郑珂珂¹ 肖登元^{1,2} 李庆华³

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 2. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306;
3. 海阳黄海水产有限公司 烟台 261418)

摘要 研究了牛磺酸对半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis* Günther)亲鱼繁殖性能、抗氧化功能、卵子及仔鱼质量的影响。在基础饲料中分别添加0、0.5%、1.5%的牛磺酸,配制3组(对照组 T-0、T-0.5、T-1.5)等氮等脂的配合饲料,在室内流水养殖系统进行为期63 d的养殖实验。研究结果显示,在饲料中添加0.5%牛磺酸,不仅能够提高半滑舌鲷亲鱼的相对产卵量,还能促进亲鱼体内睾酮和雌二醇的分泌($P<0.05$); T-0.5组浮卵率、受精率、孵化率、卵径、油球直径、3日龄、7日龄仔鱼体长均显著高于对照组($P<0.05$), T-0.5组和T-1.5组仔鱼畸形率显著低于对照组($P<0.05$); 3个实验组仔鱼生存活力指数(SAI)无显著性差异($P>0.05$); 饲料中添加牛磺酸能够提高其肝脏和性腺中牛磺酸含量,降低肝脏中半胱胺双加氧酶活性; T-0.5组肝脏、血清、精巢、精液中超氧化物歧化酶(SOD)活性显著高于对照组($P<0.05$),性腺和卵子中丙二醛(MDA)含量显著低于对照组($P<0.05$)。研究结果表明,饲料中添加牛磺酸能够提高半滑舌鲷亲鱼繁殖性能、抗氧化功能、卵子及仔鱼质量。在本研究条件下,牛磺酸含量为0.5%的饲料组为最佳饲料组。

关键词 牛磺酸; 半滑舌鲷; 亲鱼; 繁殖性能

中图分类号 S963 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2015)03-0101-08

牛磺酸(Taurine),俗称牛胆碱,是一种条件性必需氨基酸,对鱼类嗅觉和味觉有刺激作用,可以作为一种诱食剂添加在饲料中(邱小琮等,2002)。它不仅能提高鱼体内消化酶活性(秦帮勇等,2013),促进鱼体生长(Brotons *et al.*, 2004),还能促进脂肪酸氧化,降低脂肪在鱼体内的沉积(Espe *et al.*, 2012),并可协助中性脂肪、胆固醇、脂溶性维生素及其他脂溶性物质的消化吸收(Mizushima *et al.*, 1996)。另外,牛磺酸能够维持细胞膜稳定,增强机体抗氧化能力,提高动物繁殖性能(王和伟等,2013),还可以通过防止精子细胞的脂质过氧化作用,维持正常精子的运动能力,是精子活力的促动剂(王继强等,2010)。

半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis*),俗称牛舌头,

生长速度快,肉味鲜美,经济价值很高(李思忠等,1995;肖登元等,2014),在自然海域中雄性数量少且性腺不发达,所以自身繁殖能力很弱(庄志猛,2006)¹⁾。亲鱼饲料的营养质量是影响其生殖性能及卵子质量的重要因素之一(Izquierdo *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2005; 常青等,2002),而半滑舌鲷亲鱼营养需求的研究工作才刚刚起步(Liang *et al.*, 2014; 吕庆凯等,2013; 肖登元等,2015),目前还没有专门针对半滑舌鲷亲鱼的饲料,实际生产中主要以冰鲜杂鱼或者养成阶段的配合饲料来投喂半滑舌鲷亲鱼。

本研究是在基础饲料中添加不同水平的牛磺酸,研究牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼繁殖性能、卵子及仔鱼质量的影响,探究牛磺酸在半滑舌鲷亲鱼性腺成熟、产

* 鲆鲽类产业技术体系研究专项经费(CARS-50-G08)资助。赵敏, E-mail: zhaomin452@126.com

① 通讯作者: 梁萌青, 研究员, E-mail: liangmq@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2014-05-07, 收修改稿日期: 2014-06-10

1) 庄志猛. 半滑舌鲷早期发育生物学与种质资源研究. 中国海洋大学博士研究生学位论文, 2006, 50-52

卵和仔稚鱼阶段的作用,为半滑舌鳎亲鱼人工配合饲料的研发积累资料。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼与实验饲料

实验鱼为人工养殖的半滑舌鳎亲鱼,购自山东海阳市黄海水产公司。从亲鱼池中随机挑选性腺尚未开始发育且个体差异较小的3龄雌鱼(1.00–1.35 kg) 45尾、雄鱼(0.4–0.5 kg) 60尾,随机分配到3个3 m×2.5 m×1.2 m的水泥池中,每池15尾雌鱼、20尾雄鱼,养殖实验从2013年7月1日–9月2日持续63 d。

基础饲料配方及营养组成见表1。分别在基础饲料中添加0、0.5%、1.5%的牛磺酸,以纤维素配平,制成直径为6 mm的配合饲料,低温烘干后冷冻保存。

1.2 饲养管理

1.2.1 亲鱼饲养 参照柳学周等(2006)的方法,采用流水养殖,养殖水深为70 cm,日换水量为养殖水体的3–5倍,连续充气,溶氧含量保持在6 mg/L以上,养殖水体水温为19–25℃,盐度为30–33, pH为7.6–8.2。采用白炽灯调控光照强度,保持光线均匀、柔和,光照时间由8 h逐渐延长至12 h,每天增加0.5 h。实验开始前,用基础饲料暂养10 d,观察亲鱼摄食情况,并确定最终投喂量。实验开始后,用上述3种实验饲料分别喂3组亲鱼,每天07:00和19:00饱食投喂两次,投喂0.5 h后排水以清除残饵,养殖周期为63 d。

1.2.2 孵化及仔鱼培育 养殖结束后,每组挑选6尾性腺发育良好的亲鱼,注射LRH-A2(鱼用促黄体素释放素类似物2号),33 h后人工挤卵,并测定每条产卵亲鱼的体重和产卵量。将卵子人工授精后加入海水,静置10–15 min,取上浮卵布入孵化网箱。孵化期间微充气,水温控制在(23±0.5)℃,盐度为30–33, pH为8.0–8.2,溶氧量为5 mg/L以上,总氨氮≤0.1 mg/L(杨景峰等,2010)。每12 h吸底一次,清除沉卵。

孵化30 h后,每组取100 ml上浮卵平均分配到4个圆形玻璃缸(直径180 cm、高125 cm)中。培育用水为砂滤海水,水温控制在(23±0.5)℃,盐度为30–32, pH为7.9–8.2,溶氧量为6 mg/L以上,总氨氮≤0.1 mg/L。初期水量为玻璃缸容积的3/5,前5 d加水至满,以后采用流水培育,换水量逐渐增大,至10日龄时,换水量为50%。在仔鱼开口前投喂小球藻,保持密度为3×10⁸ L左右,3–11日龄投喂轮虫,每次投喂量5–6个/ml(朱丽华等,2011)。

表1 实验饲料配方成分组成及营养组成
Tab.1 Diet formula and proximate composition(%)

成分组成 Ingredients	T-0	T-0.5	T-1.5
鱼粉 Fishmeal	68.00	68	68
磷虾粉 Krill meal	6.00	6.0	6.0
高筋粉 Wheat gluten meal	10.00	10.0	10.0
大豆卵磷脂 Soybean phospholipid	2.00	2.0	2.0
鱼油 Fish oil	7.00	7.0	7.0
大豆油 Soybean oil	1.00	1.0	1.0
胆碱 Choline	1.00	1.0	1.0
磷酸二氢钙 Monocalcium phosphate	1.50	1.5	1.5
¹ 维生素混合料 Vitamin mix	0.50	0.5	0.5
² 矿物质混合料 Mineral mix	0.50	0.5	0.5
维生素 C Vitamin C	0.50	0.5	0.5
纤维素 Cellulose	2.00	1.5	0.5
牛磺酸 Taurine	0.00	0.5	1.5
营养成分 Proximate composition(% DM)			
牛磺酸 Taurine	0.52	0.97	1.92
粗蛋白 Crude protein	56.01	57.22	57.75
粗脂肪 Crude lipid	15.68	15.77	15.79
灰分 Ash	13.24	13.25	13.28

注: 1: 维生素混合料(mg/kg or g/kg 饲料): 维生素 D 5 mg; 核黄素 45 mg; 生物素 1.20 mg; 盐酸吡哆醇, 20 mg; 维生素 A, 32 mg; 维生素 E, 120 mg; 维生素 B₁₂, 0.1 mg; 肌醇, 800 mg; 烟酸, 200 mg; 硫胺素, 25 mg; 叶酸, 20 mg; 泛酸, 60 mg; 维生素 K₃, 10 mg; 次粉 18.67 g

2: 矿物质混合料(mg/kg or g/kg 饲料): 硫酸镁, 1200 mg; 硫酸锌, 50 mg; 氯化钴, 50 mg; 硫酸铜, 10 mg; 碘化钾, 0.8 mg; 磷酸二氢钙, 3000 mg; 硫酸铁, 80 mg; 氯化钠, 100 mg; 氟化钠, 2 mg; 沸石粉, 15.51 g

Note: 1: Vitamin premix (mg/kg or g/kg diet): riboflavin 45 mg, biotin 1.2 mg, vitamin D 5 mg, pyridoxine 20 mg, vitamin A 32 mg, vitamin E 120 mg, vitamin B₁₂ 0.1 mg, inositol 800 mg, tocopherol acetate 200 mg, thiamine 25 mg, folic acid 20 mg, pantothenate 60 mg, menadione 10 mg, wheat flour 18.67 g

2: Mineral premix (mg/kg or g/kg diet): MgSO₄·4H₂O 1200 mg; ZnSO₄·7H₂O 50 mg; CoCl₂·6H₂O 50 mg; FeSO₄·7H₂O 80 g; KI 0.8 mg; Ca (H₂PO₄)₂·H₂O 3000 g; CuSO₄·5H₂O 10 mg; NaCl 100 g; NaF 2 mg; Mordenzeo 15.51 g

1.3 卵子及仔鱼质量评价

每条产卵亲鱼取1 ml卵于培养皿,加海水后测定浮卵率。其中,质量好的卵子会上浮,质量较差或死卵会沉在培养皿底部,每条亲鱼重复取3次卵子;受精2 h后,从每个孵化网箱3个不同位置共取100粒受精卵,在显微镜下观察并拍照记录,统计受精率(杨景峰等,2010),从上述100粒卵子中随机挑选20粒卵子测量卵径,挑选25个油球测量油球直径,重复3次;受精30 h后,从各实验组孵化网箱中取1 ml

受精卵布入 1000 ml 烧杯中, 每组 3 个重复, 待仔鱼全部孵出后, 统计孵化率、畸形率, 其中, 畸形是指孵出仔鱼尾部弯曲或者脊柱弯曲的个体。仔鱼活力以生存活力指数为衡量指标, 从每个玻璃缸中选取 100 尾发育正常的初孵仔鱼, 放入加满海水的烧杯中(1000 ml), 每天换水 1/3, 不加温不投喂, 测定每天死亡数, 直到所有仔鱼全部死亡, 计算 SAI(生存活力指数)值(Zakeri *et al*, 2011)。待仔鱼孵出后, 从每个圆形玻璃缸中随机选取 10 尾仔鱼测体长(每隔 24 h 测一次), 每组 3 个重复, 连续测量 11 d。

1.4 样品收集

亲鱼产卵后, 取卵子于 1000 ml 烧杯中, 加海水静置 2 min, 从上浮卵中取 35 ml 保存于-20℃冰箱($n=3-6$)。受精 30 h 后, 从每个孵化网箱取 5 ml 受精卵保存于-20℃冰箱, 用于生化分析。每组选取 3 尾雌鱼、3 尾雄鱼, 称重后于尾静脉抽血, 将血液低温静置 4 h 后, 离心 10 min (3000 g/min), 取上清液, 保存于-20℃冰箱中, 取肌肉、性腺、肝脏保存用于生化分析。将挤出的雄鱼精液稀释 50 倍, 在显微镜下用血球计数板计算精液浓度, 每组 3 个重复。

1.5 分析方法

饲料和卵在 105℃烘干至恒重, 采用凯氏定氮法(VELP, UDK142 automatic distillation unit, 意大利)测定粗蛋白含量; 粗脂肪含量采用索氏抽提法测定(FOSS 脂肪测定仪 SOXTEC 2050, 瑞典); 样品在马福炉中灼烧 3 h(550℃), 失重法测定灰分含量。参照国标测定方法(GB/T5009.124-2003), 用日立 L-8900 型氨基酸分析仪测定各生理组织氨基酸组成。

超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量的测定均采用南京建成生物研究所生产的试剂盒进行测试。半胱胺双加氧酶(CDO)活性的测定是参照 Goto 等(2001)测定方法。血清中雌二醇和睾酮含量采用光化学方法检测。

1.6 计算公式及数据统计

相对产卵量=总产卵量/亲鱼体重

浮卵率=上浮卵数/卵子总数×100%

受精率=受精卵数/卵子总数×100%

孵化率=初孵仔鱼数/受精卵数×100%

仔鱼畸形率=畸形仔鱼数/仔鱼总数×100%

精液浓度(个/ml) = 80 个小方格细胞总数/80×400×10000×稀释倍数

SAI(生存活力指数 Survival Activity Index) =
$$\sum_{i=1}^k (N - h_i) \times i / N$$

式中, h_i 为第 i 天的仔鱼死亡累积数量, k 为生存尾数为 0 时的天数; N 为实验开始时的仔鱼数。

采用 SPSS17.0 软件包对数据结果进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 差异显著后进行 Duncan's 多重比较, 数据以平均值±标准差表示, 差异显著水平为 0.05。

2 结果

2.1 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼繁殖性能的影响

表 2 为饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼相对产卵量及精液浓度的影响, 各实验组存活率均在 90% 左右, 随着饲料中牛磺酸添加量的升高, 半滑舌鲷亲鱼相对产卵量显著提高($P<0.05$); 添加牛磺酸的 T-0.5 组及 T-1.5 组精液浓度略高于对照组, 但 3 组之间差异不显著($P>0.05$)。

表 3 为各实验组亲鱼血清中雌二醇(E_2)和睾酮(T)含量, 其中 T-0.5 组与 T-1.5 组雌鱼血清中雌二醇含量无显著性差异($P>0.05$), 但都显著性高于对照组($P<0.05$); T-0.5 组雄鱼血清中睾酮含量显著高于其它两组($P<0.05$), 对照组与 T-1.5 组之间无显著性差异($P>0.05$)。

2.2 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷卵子和仔鱼质量的影响

饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷卵子质量的影响见表 4。从表 4 可以看出, 其中 T-0.5 组浮卵率和受精率分别为 94.6%、76.23%, 显著高于对照组的 80.9%、65.2%($P<0.05$), T-1.5 组与其他两组无显著性差异

表 2 各实验组亲鱼相对产卵量及精液浓度比较

Tab.2 The relative fecundity and sperm concentration from broodstock fed with different experimental diets

项目 Items	T-0	T-0.5	T-1.5
存活率 Survival rate(%)	89	91	91
相对产卵量 Relative fecundity(10^5 eggs/kg)	1.54±0.20 ^a	1.93±0.05 ^b	2.44±0.16 ^c
精液浓度 Sperm concentration (10^9 ind/ml)	3.20±0.05	3.37±0.15	3.21±0.04

注: 同行数据中不同字母的表示差异显著($P<0.05$)

Note: The data in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

表3 各实验组亲鱼血清中雌二醇和睾酮含量

Tab.3 The estradiol and testosterone levels in serum from broodstock fed with different experimental diets

含量 Content(nmol/L)	T-0	T-0.5	T-1.5
雌二醇 Estradiol	3.98±0.88 ^a	6.26±0.82 ^b	5.64±0.49 ^b
睾酮 Testosterone	1.39±0.10 ^a	3.86±0.89 ^b	1.28±0.61 ^a

注：同行数据中不同字母的表示差异显著($P<0.05$)

Note: The data in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

表4 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷卵子质量的影响

Tab.4 Effects of dietary taurine on the egg quality of tongue sole

项目 Items	T-0	T-0.5	T-1.5
浮卵率 Buoyant egg rate(%)	80.90±6.41 ^a	94.60±5.06 ^b	88.83±4.22 ^{ab}
受精率 Fertilization rate(%)	65.23±2.54 ^a	76.23±2.66 ^b	71.04±6.39 ^{ab}
孵化率 Hatching rate(%)	77.40±2.54 ^a	91.26±2.75 ^b	86.71±1.44 ^b
卵径 Egg diameter(mm)	1.13±0.01 ^a	1.18±0.01 ^b	1.18±0.01 ^b
油球直径 Oil droplet diameter(μm)	92.66±0.71 ^a	95.13±0.59 ^b	95.68±0.13 ^b

注：同一行中数据中具有不同字母的表示差异显著($P<0.05$)

Note: The data in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

($P>0.05$); T-0.5 组与 T-1.5 组孵化率、卵径和油球直径无显著性差异($P>0.05$), 但都显著高于对照组($P<0.05$)。卵子干物质营养成分分析见表5。从表5可以看出, 3个实验组卵子脂肪含量无显著性差异($P>0.05$);

表5 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷卵子化学成分的影响

Tab.5 Effects of dietary taurine on the egg chemical composition of tongue sole

项目 Items	T-0	T-0.5	T-1.5
干物质 Dry matter(%)	7.61±0.46	7.66±0.41	7.28±0.56
粗蛋白 Crude protein(%)	4.27±0.11 ^a	4.83±0.22 ^b	4.29±0.37 ^a
粗脂肪 Crude lipid (%)	1.26±0.09	1.31±0.01	1.20±0.07

注：同行数据中不同字母的表示差异显著($P<0.05$)

Note: The data in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

T-0.5 组卵子蛋白含量显著高于其他两组($P<0.05$), T-1.5 组与对照组的蛋白含量无显著性差异($P>0.05$)。

饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷仔鱼质量的影响如表6所示, 3个实验组初孵仔鱼体长无显著性差异($P>0.05$); T-0.5 组仔鱼3日龄体长显著高于对照组, T-1.5 组仔鱼3日龄体长与其他两组无显著性差异($P>0.05$); T-0.5 组仔鱼7日龄体长显著高于其他两组($P<0.05$), T-1.5 组仔鱼7日龄体长与对照组无显著性差异($P>0.05$); T-0.5 组与 T-1.5 组仔鱼畸形率无显著性差异($P>0.05$), 但都显著低于对照组($P<0.05$)。

2.3 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼及卵子牛磺酸含量的影响

饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼肝脏中牛磺酸和半胱氨酸含量及半胱胺双加氧酶活性的影响如表7所示, 随饲料中牛磺酸含量的升高, 肝脏中牛磺酸含量显著升高($P<0.05$); T-0.5 组与 T-1.5 组肝脏中

表6 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷仔鱼质量的影响

Tab.6 Effects of dietary taurine on the larval quality of tongue sole

项目 Items	T-0	T-0.5	T-1.5
初孵仔鱼体长 Larval length at 1 DPH(mm)	3.26±0.03	3.20±0.16	3.24±0.09
3日龄体长 Larval length at 3 DPH(mm)	5.59±0.09 ^a	5.81±0.02 ^b	5.71±0.09 ^{ab}
7日龄体长 Larval length at 7 DPH(mm)	5.89±0.03 ^a	6.15±0.04 ^b	5.88±0.12 ^a
仔鱼畸形率 Abnormal larvae rate(%)	5.83±0.81 ^b	3.61±0.31 ^a	3.26±0.89 ^a
生存活力指数 SAI	19.08±1.89	18.12±2.92	14.86±0.93

注：同行数据中不同字母的表示差异显著($P<0.05$)

Note: The data in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

表7 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼肝脏中半胱氨酸、牛磺酸含量及半胱胺双加氧酶活性的影响

Tab.7 Effects of dietary taurine on cysteine and taurine content and cysteamine dioxygenase activities in the liver from tongue sole broodstocks

项目 Items	T-0	T-0.5	T-1.5
牛磺酸含量 Taurine content(% DM)	1.00±0.04 ^a	1.16±0.11 ^b	1.34±0.04 ^c
半胱氨酸含量 Cysteine content(% DM)	0.80±0.07 ^a	1.12±0.17 ^b	1.33±0.19 ^b
半胱胺双加氧酶活性 CDO activity (nmol/min·mg prot)	3.08±0.66 ^a	1.05±0.25 ^b	1.48±0.69 ^b

注：同行数据中不同字母的表示差异显著($P<0.05$)

Note: The data in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

半胱氨酸含量无显著性差异($P>0.05$), 但都显著性高于对照组($P<0.05$); T-0.5 组与 T-1.5 组肝脏中半胱胺双加氧酶(CDO)活性无显著性差异($P>0.05$), 但都显著性低于对照组($P<0.05$)。

半滑舌鲷亲鱼肌肉、精巢、卵巢、受精卵中牛磺酸含量见表 8。从表 8 可以看出, 其中 T-0.5 组肌肉中牛磺酸含量略低于其他两组, 但 3 组之间差异不显著($P>0.05$)。T-0.5 组精巢和受精卵中牛磺酸含量显著高于对照组($P<0.05$), 而 T-1.5 组与其他两组无显著性差异($P>0.05$)。对照组卵巢中牛磺酸含量略低于其他两组, 但 3 个实验组之间差异不显著($P>0.05$)。

表 8 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼肌肉、性腺及受精卵牛磺酸含量的影响

Tab.8 Effects of dietary taurine on the muscle, gonad and egg taurine content from tongue sole broodstocks

牛磺酸含量 Taurine content(% DM)	T-0	T-0.5	T-1.5
肌肉 Muscle	0.97±0.15	0.84±0.01	0.94±0.07
精巢 Testicle	1.48±0.16 ^a	2.04±0.17 ^b	1.69±0.26 ^{ab}
受精卵 Fertilized eggs(30 h)	0.20±0.01 ^a	0.23±0.01 ^b	0.22±0.01 ^{ab}
卵巢 Ovary	0.29±0.03	0.30±0.01	0.30±0.02

注: 同行数据中不同字母的表示差异显著($P<0.05$)

Note: The data in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

2.4 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼抗氧化功能的影响

饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼精巢、肝脏、精液、卵巢、卵子及血清中 SOD 活性和 MDA 含量的影响见表 9、表 10, 由表 9、表 10 中可以看出, T-0.5 组肝脏、血清、精巢、精液中超氧化物歧化酶(SOD)活性显著高于对照组($P<0.05$), 精巢、卵巢和卵子中丙二醛(MDA)含量显著低于对照组($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼繁殖性能的影响

在哺乳动物中, 牛磺酸是母猫正常妊娠、分娩、仔猫成活和正常发育所必需的营养物质(何天培等, 1994); 缺乏牛磺酸能显著降低母猪繁殖能力, 并导致流产、死胎和仔猪生长速度显著降低(王继强等, 2010)。因此, 牛磺酸对哺乳动物繁殖具有重要意义。

性激素主要包括雌二醇和睾酮, 睾酮具有促进精子发生、促进生殖管道发育与分化, 维持生殖功能的

表 9 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼精巢、肝脏、精液、卵巢和卵子 SOD 活性及 MDA 含量的影响

Tab.9 Effects of dietary taurine on SOD activities and MDA contents in testicle, liver, semen, ovary, and eggs from tongue sole broodstocks

组别 Groups	SOD 活性 SOD activity (U/mg prot)	MDA 含量 MDA content (nmol/mg prot)
精巢 Testicle		
T-0	26.59±0.90 ^a	0.93±0.15 ^a
T-0.5	29.12±1.50 ^b	0.71±0.06 ^b
T-1.5	27.53±0.67 ^{ab}	0.52±0.05 ^b
肝脏 Liver		
T-0	51.66±4.23 ^a	0.21±0.04
T-0.5	62.44±3.78 ^b	0.25±0.03
T-1.5	57.52±5.73 ^{ab}	0.22±0.03
精液 Semen		
T-0	153.31±18.00 ^a	8.81±3.61
T-0.5	205.93±22.92 ^b	12.43±1.78
T-1.5	217.58±21.00 ^b	15.3±3.72
卵巢 Ovary		
T-0	100.99±6.38	1.25±0.10 ^a
T-0.5	100.00±6.88	1.08±0.06 ^b
T-1.5	95.62±13.91	1.04±0.07 ^b
卵子 Eggs		
T-0	24.85±3.58	21.60±3.95 ^a
T-0.5	25.60±2.94	15.76±2.29 ^b
T-1.5	25.43±4.19	15.53±0.54 ^b

注: 同行数据中不同字母的表示差异显著($P<0.05$)

Note: The data in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

表 10 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼血清中 SOD 活性和 MDA 含量的影响

Tab.10 Effects of dietary taurine on SOD activities and MDA contents in serum of tongue sole broodstocks

血清 Serum	SOD 活性 SOD activity (U/ml)	MDA 含量 MDA contents (nmol/ml)
T-0	340.03±30.85 ^a	129.39±57.69
T-0.5	424.43±40.70 ^b	219.89±25.98
T-1.5	559.10±40.54 ^c	144.54±65.46

注: 同行数据中不同字母的表示差异显著($P<0.05$)

Note: The data in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

作用, 雌二醇能促进卵泡细胞发育、成熟, 并直接反映卵巢的分泌功能, 它们都能够促进性器官成熟, 维持性功能, 其分泌水平能够反映机体性成熟程度, 是准确判断鱼类生殖状态的重要指标(徐永江等, 2011)。在本研究中, 饲料中添加 0.5% 的牛磺酸可显著提高半滑舌鲷亲鱼血清中睾酮含量($P<0.05$), 这与国内学

者研究结果一致(杨建成等, 2007; Yang *et al.*, 2010)。另外, 同样发现, 饲料中添加牛磺酸能显著提高半滑舌鲷亲鱼血清中雌二醇含量($P < 0.05$)。这表明, 在饲料中添加适量牛磺酸后, 同样能够促进半滑舌鲷亲鱼鱼体性激素水平的提高。同时, 牛磺酸添加组雄鱼精液浓度与对照组(T-0组)相比, 尽管差异不显著($P > 0.05$), 但仍有提高, 在半滑舌鲷雌鱼相对产卵量中, 更是发现随饲料中牛磺酸添加量的升高相对产卵量显著升高($P < 0.05$), 而雄鱼精液浓度和相对产卵量是衡量亲鱼繁殖力大小的最直观指标。由此可见, 半滑舌鲷摄食添加牛磺酸的饲料后, 可以提高自身的性激素水平, 从而提高繁殖性能。该结果与 Matsunari 等(2006)在牛磺酸对黄尾鲷(*Seriola quinqueradiata*)亲鱼的研究结果相似。

3.2 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷卵子和仔鱼质量的影响

亲鱼营养状况不仅影响其繁殖性能, 还对卵子及仔鱼质量具有重要影响(Izquierdo *et al.*, 2001)。Matsunari 等(2006)研究发现, 牛磺酸能够影响黄尾鲷亲鱼卵子的质量, 当饲料中牛磺酸缺乏时, 亲鱼卵巢发育缓慢, 不能正常排卵, 而当饲料中牛磺酸含量升高时, 作为评价卵子质量重要指标(Sink *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2005)的浮卵率、受精率、孵化率均有升高趋势。本研究结果表明, 饲料中添加 0.5% 的牛磺酸不仅提高了半滑舌鲷亲鱼卵子的浮卵率、受精率和孵化率($P < 0.05$), 而且 T-0.5 组卵子的卵径、油球直径及卵子蛋白含量均显著高于对照组($P < 0.05$), 油球和卵子蛋白能够为受精卵孵化和胚胎发育提供营养, 其大小和含量也可以作为评价卵子质量的指标(Zakeri *et al.*, 2011; Sink *et al.*, 2008)。因此, 饲料中添加牛磺酸能够显著提高半滑舌鲷卵子质量。

用牛磺酸强化轮虫, 可以增加轮虫体内牛磺酸含量, 并能促进轮虫种群增长及繁殖(朱成成等, 2013), 用强化后的轮虫饲养黄尾鲷仔鱼, 可以显著提高仔鱼生长(Matsunari *et al.*, 2013); 另有在配合饲料中添加牛磺酸也可以提高塞内加尔鲷(*Solea senegalensis*)仔鱼(Pinto *et al.*, 2010)、军曹鱼(*Rachycentron canadus*)仔鱼(Salze *et al.*, 2012)、鲳鲈(*Trachinotus carolinus*)仔鱼(Rossi *et al.*, 2012)体内牛磺酸含量并促进其生长。这些研究表明, 补充外源性牛磺酸都可以促进鱼体生长, 其原因可能是由于补充牛磺酸后, 相应地减少鱼体内牛磺酸的生物合成, 使更多的含硫氨基酸参与蛋白质的合成, 提高蛋白质的利用率。在本研究中, T-0.5 组仔鱼 3 日龄、7 日龄体长均显著高于对照组,

作者认为, 这可能是由于 T-0.5 组饲料饲喂的亲鱼产的卵子营养物质丰富, 卵质较好, 能够为仔鱼孵化阶段提供充足营养, 且提高受精卵中牛磺酸含量, 从而促进仔鱼生长。另外, 除仔鱼的生长外, 本研究还发现, 饲料中添加牛磺酸后, 仔鱼畸形率显著降低, 而生存活力指数无显著性差异($P > 0.05$)。这可能是由于牛磺酸添加组的受精卵中牛磺酸含量较高, 而牛磺酸能够维持细胞膜稳定, 增强机体抗氧化能力, 减少胚胎发育过程中氧化作用对机体的伤害, 从而保证仔鱼正常孵化。因此, 饲料中添加牛磺酸对提高半滑舌鲷仔鱼质量有一定促进作用。

3.3 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼及卵子牛磺酸含量的影响

Kim 等(2008)认为, 不同鱼类合成牛磺酸的能力有很大的差异, 但半胱次磺酸脱羧酶和半胱胺双加氧酶是鱼类合成牛磺酸的两种关键酶。已有研究表明, 给虹鳟(*Rachycentron canadus*)注射半胱氨酸后, 其肝脏内半胱氨酸双加氧酶活性显著上升(Yokoyama *et al.*, 1996), 表明虹鳟可以利用半胱氨酸合成牛磺酸(Yokoyama *et al.*, 1998; Walton *et al.*, 1982)。本研究也发现, 对照组半滑舌鲷亲鱼肝脏中半胱氨酸含量显著低于牛磺酸添加组, 而半胱胺双加氧酶活性显著高于牛磺酸添加组, 其可能是由于半滑舌鲷亲鱼繁殖期间对照组饲料中的牛磺酸含量不足, 从而增加了肝脏利用半胱氨酸合成牛磺酸, 从而使肝脏中半胱氨酸含量降低; 本研究中还发现, 随饲料中牛磺酸含量的升高, 肝脏中牛磺酸含量显著升高($P < 0.05$), 而肝脏是机体代谢中心。综上所述, 作者认为, 半滑舌鲷亲鱼可以从添加牛磺酸的饲料中摄取牛磺酸, 来满足机体繁殖期内对牛磺酸的需求。

T-0.5 组半滑舌鲷精巢及受精卵中牛磺酸含量显著高于对照组($P < 0.05$), 而肌肉中牛磺酸含量略低于对照组($P > 0.05$)。可能是对于繁殖期的亲鱼, 牛磺酸对性腺发育具有重要作用, 而机体内牛磺酸在性腺内积累并发挥作用。这与鱼类在生长期肌肉内牛磺酸含量较高结果相似(Qi *et al.*, 2012)。

3.4 饲料中添加牛磺酸对半滑舌鲷亲鱼抗氧化功能的影响

牛磺酸能够防止兔精液细胞膜的脂质过氧化, 保持正常精子的活动能力(陈宠霞等, 2006)。在动物体外受精和体外培养的研究中, 进一步证实了牛磺酸等抗氧化物质主要用于抵消胚胎发育过程中的氧化作用, 从而克服“发育阻滞”的出现(Devreker *et al.*, 1999;

Guerin *et al.*, 2001)。本研究发现,饲料中添加 0.5%的牛磺酸可以显著提高精巢中 SOD 活性,降低精巢中 MDA 含量($P<0.05$),而 SOD 是清除体内自由基的关键酶,MDA 是自由基引发的脂质过氧化作用的最终分解产物,这两个指标可以综合反映机体抗氧化能力大小。另外,T-0.5 组肝脏、血清及精液中 SOD 活性显著高于 T-0 组,而卵巢、卵子中 MDA 含量显著低于对照组。因此,饲料中添加牛磺酸可以提高半滑舌鳎亲鱼抗氧化能力,减轻鱼体的脂质过氧化作用,这与国内学者研究结果一致(刘洋景等,2011;邱小琮等,2008;杨小然等,2011;李越等,2013)。

本研究结果表明,在饲料中添加一定量的牛磺酸可以提高半滑舌鳎亲鱼繁殖性能、卵子及仔鱼质量,并能促进半滑舌鳎亲鱼的抗氧化功能,在本研究条件下,牛磺酸添加量为 0.5%的饲料组为最佳饲料组。

参 考 文 献

- 王和伟,叶继丹,陈建春.牛磺酸在鱼类营养中的作用及其在鱼类饲料中的应用.动物营养学报,2013,25(7):1418-1428
- 王继强,龙强,李爱琴,等.牛磺酸的营养价值及其在家禽日粮上的应用.家禽科学,2010(4):43-46
- 吕庆凯,梁萌青,郑珂珂,等.饲料中添加不同脂肪源对半滑舌鳎亲鱼繁殖性能和仔鱼质量的影响.渔业科学进展,2013,33(6):44-52
- 朱丽华,王君霞.半滑舌鳎人工繁殖试验.河北渔业,2011(5):51,68
- 刘洋景,王贵霞,张括,等.牛磺酸对后备蛋鸭机体抗氧化功能的影响.中国家禽,2011,33(21):15-18
- 朱成成,陈玉珂,董晓庆,等.牛磺酸对圆型臂尾轮虫种群增长及繁殖的影响.华中农业大学学报,2013,32(4):111-115
- 李思忠,王惠民.中国动物志:硬骨鱼纲.鲽形目.北京:科学出版社,1995,68-334
- 何天培,王玉江.牛磺酸在猫营养中的作用.中国畜牧兽医,1994,21(2):36-37
- 肖登元,梁萌青,王新星,等.饲料中不同水平维生素 A 对半滑舌鳎亲鱼繁殖性能及后代质量的影响.渔业科学进展,2014,35(3):50-59
- 肖登元,梁萌青,王新星,等.饲料中添加不同水平的维生素 E 对半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)亲鱼繁殖性能及后代质量的影响.渔业科学进展,2015,36(2):125-132
- 陈宠霞,金一.添加牛磺酸对兔精液液态保存质量参数的影响.畜牧与兽医,2006,38(8):25-27
- 邱小琮,赵红雪,魏智清.牛磺酸对鲤鱼诱食活性的初步研究.河北渔业,2006(8):9-11
- 邱小琮,赵红雪,王远吉,等.牛磺酸对鲤非特异性免疫及抗氧化能力的影响.上海水产大学学报,2008,17(4):429-434
- 李越,王安,谭玲芳,等.牛磺酸对笼养生长期蛋鸭生长性能及抗氧化功能的影响.中国饲料,2013(4):12-15
- 杨建成,冯颖,孙长勉,等.牛磺酸对雄性大鼠生殖激素分泌水平的影响.安徽农业科学,2007,35(11):3283-3284
- 杨景峰,陈松林,翟介明,等.半滑舌鳎人工催产技术研究.内蒙古民族大学学报(自然科学版),2010,25(2):185-187
- 杨小然,王安,郭志杰.牛磺酸对笼养蛋雏鸭生长性能,抗氧化功能及免疫器官发育的影响.动物营养学报,2011,23(5):807-812
- 柳学周,孙中之,马爱军,等.半滑舌鳎亲鱼培育及采卵技术研究.海洋水产研究,2006,27(2):25-32
- 秦帮勇,常青,于朝磊,等.半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis* Günther) α -淀粉酶基因的克隆及牛磺酸对其表达的影响.海洋与湖沼,2013,44(4):988-995
- 徐永江,柳学周,王清印,等.半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)血浆性类固醇激素表达与卵巢发育及温光调控的关系研究.海洋与湖沼,2011,42(1):67-74
- 常青,梁萌青,薛华,等.亲鱼营养的研究进展.海洋水产研究,2002,23(2):65-71
- Brotons MJ, Chatzifotis S, Divanach P, *et al.* Effect of dietary taurine supplementation on growth performance and feed selection of sea bass *Dicentrarchus labrax* fry fed with demand-feeders. Fisheries Sci, 2004, 70(1): 74-79
- Devreker F, Van den Bergh M, Biramane J, *et al.* Effects of taurine on human embryo development in vitro. Hum Reprod, 1999, 14(9): 2350-2355
- Espe M, Ruohonen K, El Mowafi A. Effect of taurine supplementation on the metabolism and body lipid-to-protein ratio in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquac Res, 2012, 43(3): 349-360
- Goto T, Matsumoto T, Takagi S. Distribution of the hepatic cysteamine dioxygenase activities in fish. Fisheries Sci, 2001, 67(6): 1187-1189
- Guerin P, El Mouatassim S, Menezo Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. Hum Reprod Update, 2001, 7(2): 175-189
- Izquierdo MS, Fernandez-Palacios H, Tacon A. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture, 2001, 197(1-4): 25-42
- Kim SK, Matsunari H, Takeuchi T, *et al.* Comparison of taurine biosynthesis ability between juveniles of Japanese flounder and common carp. Amino Acids, 2008, 35(1): 161-168
- Liang MQ, Lu QK, Qian C, *et al.* Effects of dietary n-3 to n-6 fatty acid ratios on spawning performance and larval quality in tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. Aquaculture, 2014, 20(1): 79-89
- Li YY, Chen WZ, Sun ZW, *et al.* Effects of n-3 HUFA content in broodstock diet on spawning performance and fatty acid composition of eggs and larvae in *Plectorhynchus cinctus*. Aquaculture, 2005, 245(1-4): 263-272
- Matsunari H, Hamada K, Mushiaki K, *et al.* Effects of taurine levels in broodstock diet on reproductive performance of yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Fisheries Sci, 2006, 72(5): 955-960
- Matsunari H, Hashimoto H, Iwasaki T, *et al.* Effect of feeding rotifers enriched with taurine on the growth and survival of larval amberjack *Seriola dumerili*. Fisheries Sci, 2013, 79(5): 815-821
- Mizushima S, Nara Y, Sawamura M, *et al.* Effects of oral taurine supplementation on lipids and sympathetic nerve tone. Adv Exp Med Biol, 1996, 403: 615-636
- Pinto W, Figueira L, Ribeiro L, *et al.* Dietary taurine supplementation enhances metamorphosis and growth potential of *Solea senegalensis* larvae. Aquaculture, 2010, 309(1-4): 159-164
- Qi GS, Ai QH, Mai KS, *et al.* Effects of dietary taurine supple-

- mentation to a casein-based diet on growth performance and taurine distribution in two sizes of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 2012, 358–359: 122–128
- Rossi Jr W, Davis DA. Replacement of fishmeal with poultry by-product meal in the diet of Florida pompano *Trachinotus carolinus* L. *Aquaculture*, 2012, 338–341: 160–166
- Salze G, Mclean E, Craig SR. Dietary taurine enhances growth and digestive enzyme activities in larval cobia. *Aquaculture*, 2012, 362–363: 44–49
- Sink TD, Lochmann RT, Pohlenz C, *et al.* Effects of dietary protein source and protein-lipid source interaction on channel catfish (*Ictalurus punctatus*) egg biochemical composition, egg production and quality, and fry hatching percentage and performance. *Aquaculture*, 2010, 298(3–4): 251–259
- Sink TD, Lochmann RT. Effects of dietary lipid source and concentration on channel catfish (*Ictalurus punctatus*) egg biochemical composition, egg and fry production, and egg and fry quality. *Aquaculture*, 2008, 283(1–4): 68–76
- Walton MJ, Cowey CB, Adron JW. Methionine metabolism in rainbow trout fed diets of differing methionine and cystine content. *J Nutr*, 1982, 112(8): 1525
- Yang J, Wu G, Feng Y, *et al.* Effects of taurine on male reproduction in rats of different ages. *J Biomed Sci*, 2010, 17(Suppl 1): 1–8
- Yokoyama M, Nakazoe J. Effect of oral administration of L-cystine on hypotaurine level in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fisheries Sci*, 1998, 64(1): 144–147
- Yokoyama M, Nakazoe J. Intraperitoneal injection of sulfur amino acids enhance the hepatic cysteine dioxygenase activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol Biochem*, 1996, 15(2): 143–149
- Zakeri M, Kochanian P, Marammazi JG, *et al.* Effects of dietary n-3 HUFA concentrations on spawning performance and fatty acids composition of broodstock, eggs and larvae in yellowfin sea bream, *Acanthopagrus latus*. *Aquaculture*, 2011, 310(3–4): 388–394

(编辑 陈严)

Effects of Dietary Taurine on the Reproductive Performance and the Larval Quality in Tongue Sole *Cynoglossus semilaevis*

ZHAO Min^{1,2}, LIANG Mengqing^{1①}, ZHENG Keke¹, XIAO Dengyuan^{1,2}, LI Qinghua³

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071;

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

3. Haiyang Huanghai Aquatic Limited Corporation, Yantai 261418)

Abstract Tongue sole *Cynoglossus semilaevis* has high economic values and is extensively exploited in northern China. However, there have been few reports on the broodstock nutritional requirements of this species. In this study we investigated the effects of dietary taurine on the reproductive performance, the antioxidant function, and the egg and larval qualities of tongue sole *C. semilaevis*. Three experimental diets containing different levels of taurine (control T-0, T-0.5 and T-1.5%) were formulated and randomly distributed into three 3 m×2.5 m×1.2 m cement ponds with 15 females and 20 males in each for 9 weeks. Dietary taurine (0.5%) improved the relative fecundity and boosted the secretion of testosterone and estradiol in tongue sole broodstock ($P<0.05$). Moreover, compared to T-0, the T-0.5 diet significantly elevated the buoyant egg rate, the fertilization rate, the hatching rate, the egg diameter, the oil droplet diameter, and the larval length at 3 DPH and 7 DPH ($P<0.05$). The broodstock fed with the control (T-0) diet exhibited higher abnormal rate than the other two groups ($P<0.05$), and there was no significant difference in larval survival activity index (SAI) among the different dietary treatments ($P>0.05$). The concentrations of taurine in the liver and the gonad were increased and the activity of cysteamine dioxygenase was decreased along with the increase in dietary taurine. Compared to the control group, the activity of superoxide dismutase (SOD) in the liver, the serum, the testis, and the semen was also significantly higher in broodstock fed with T-0.5 diet ($P<0.05$), and the level of malondialdehyde (MDA) in the gonad and the eggs were significantly lower ($P<0.05$). In conclusion, these results suggested that dietary taurine may have considerable effects on the reproductive performance, the antioxidant function, and the egg and larval quality of *C. semilaevis*, and that the optimal concentration of taurine in the diet should be 0.5%.

Key words Taurine; *Cynoglossus semilaevis*; Broodstocks; Reproductive performance

① Corresponding author: LIANG Mengqing, E-mail: liangmq@ysfri.ac.cn