

牛磺酸对圆型臂尾轮虫种群增长及繁殖的影响

朱成成¹ 陈玉珂¹ 董晓庆¹ 董 婧² 张东鸣¹

1. 吉林农业大学动物科学技术学院, 长春 130118; 2. 沈阳农业大学畜牧兽医学院, 沈阳 110866

摘要 试验设 4 个处理, 每个处理设 4 个重复, 分别以 0、0.4、0.8、1.2 g/L 的牛磺酸处理轮虫, 研究不同质量浓度的牛磺酸对圆型臂尾轮虫种群增长和繁殖的影响。试验期为 264 h。结果表明: 各处理组的轮虫种群增长均与对照组有显著差异, 0.8 g/L 处理组在整个试验周期内轮虫种群密度极显著高于其他各组。对照组种群密度和日平均增长率在试验进行至 144 h 时均达到最大值, 而处理组种群密度最大值出现在 168 h, 且 0.8 g/L 处理组的种群密度峰值最大, 168 h 后对照组轮虫种群增长极显著下降。0~24 h 时, 对照组怀卵率迅速升高, 而其余各组缓慢升高。168~264 h 阶段内, 对照组怀卵率迅速下降, 而各处理组则缓慢下降。试验初步证实, 牛磺酸可以促进圆型臂尾轮虫种群增长及繁殖, 且当牛磺酸添加量为 0.8 g/L 时, 轮虫的种群增长动态表现最好。

关键词 牛磺酸; 圆型臂尾轮虫; 种群密度; 日平均增长率; 繁殖; 怀卵率

中图分类号 S 963.21 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2013)04-0111-05

牛磺酸又名牛胆碱, 化学名为 2-氨基乙磺酸 ($\text{HSO}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 是人及动物体内的一种含硫氨基酸, 普遍存在于各种组织内液中, 脑、心脏和肌肉内含量最高。牛磺酸是一种非蛋白质结构氨基酸, 不参与蛋白质组成^[1]。牛磺酸由甲硫氨酸通过胱氨酸经一系列酶促反应综合而来^[2], 即半胱氨酸加双氧酶和半胱亚磺酸脱羧酶, 这 2 种酶中半胱亚磺酸脱羧酶已被证明是牛磺酸生物合成过程中的限速酶^[3]。牛磺酸具有多种营养功能, 氨基酸类是鱼类摄食活动的强刺激剂, 而牛磺酸本身就是一种氨基酸, 因而饲料中添加适量的牛磺酸可以刺激鱼类摄食、促进动物体生长及提高动物繁殖性能等。Conceicao 等^[4]发现大菱鲆幼体的生长与日粮中牛磺酸的含量呈正相关, 对于某些水产动物苗种或者特定的生长阶段, 牛磺酸可作为其苗种的必需氨基酸。轮虫是水产动物苗期的关键饵料。关于牛磺酸对于水产动物的营养作用的研究主要集中在鱼类的饲料添加剂方面, 对于饵料生物影响的研究鲜见报道。笔者通过在轮虫培养水体中添加不同浓度的牛磺酸, 研究其对轮虫种群增长及繁殖的影响, 旨在为牛磺酸在生物饵料培养中的应用探索可行性, 并提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

牛磺酸为上海 Sigma 公司产品 (产品代号 T0625)。

圆型臂尾轮虫 (*Brachionus rotundiformis*) 由吉林农业大学动物科学技术学院水产实验室提供。用 10 L 的广口瓶进行预培养, 培养条件: 温度 (30 ± 1) °C, 盐度 2%, 连续充气, 自然光照, 饵料为酵母溶液, 每天投饵 2 次。

酵母采用湖北安琪酵母股份有限公司生产的“安琪”牌高活性干面包酵母。

1.2 试验设计

试验设 4 个处理, 牛磺酸的强化梯度分别为 0、0.4、0.8、1.2 g/L, 每个处理 4 个重复。轮虫强化试验在水浴中进行, 温度 (29 ± 1) °C, 培养体积为 2 L, 初始密度约为 260 个/mL, 盐度 3.2%, 试验期内自然光照, 不间断充气^[5]。牛磺酸经准确 (0.000 2 g) 称量后在试验开始时一次性加入培养瓶中, 试验进行至各组轮虫种群均出现下降趋势时结束, 试验期间不更换轮虫培养用水。

1.3 投喂方法

将酵母和一定体积的人工海水 (培养用海水) 放

收稿日期: 2012-12-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30671621) 和吉林省产业技术研究与开发项目 (2011002-1)

朱成成, 硕士研究生, 研究方向: 水生生物营养, E-mail: zhuchengchengmvp@126.com

通讯作者: 张东鸣, 教授, 研究方向: 水生生物营养, E-mail: dmzhang@jlau.edu.cn

入搅拌机中搅拌(13 000 r/min, 1 min),以提高酵母分散度。搅拌后计数酵母溶液中单位体积的酵母细胞数,以使轮虫培养水体的酵母浓度达到 8×10^6 cells/mL。取相应体积的酵母溶液投喂给轮虫,每天投喂 2 次,投喂时间分别为 08:00 和 20:00^[6]。

1.4 计数方法

强化后 0、6、12 和 24 h 进行取样计数,以后每间隔 24 h 随机均匀取样,取样时分别于各试验组随机取样 1 mL 置于浮游动物计数框,加 1~2 滴碘液进行固定,在解剖镜下计数各个时间段轮虫的种群密度、携卵个体数及卵数,计数 3 次,取平均值。

1.5 计算方法

日平均增长率和怀卵率分别以文献[7]和[8]的公式进行计算。

1.6 统计分析

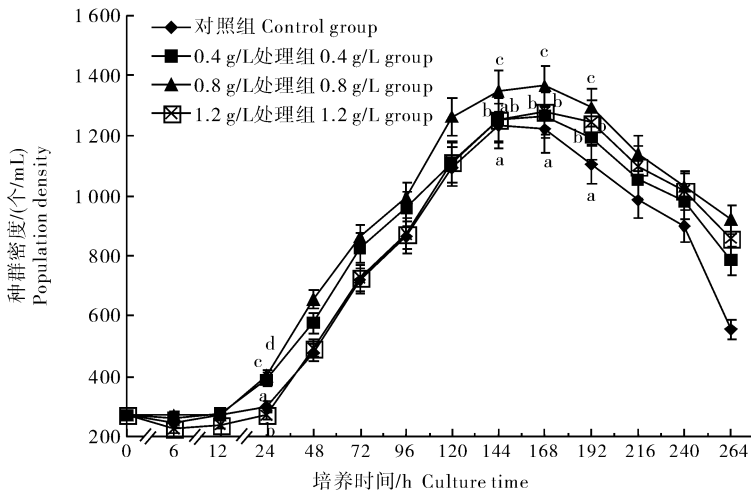
应用单因子方差分析(One-way ANOVA)比较不同牛磺酸水平对轮虫种群密度的影响。应用 LSD 多重比较检验比较各处理间的均值,差异显著性水平(P)值设在 0.01,所有统计分析均采用 SPSS17.0 软件进行。误差和置信区间用 mean \pm

SE 表示。

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度牛磺酸对轮虫种群密度的影响

由图 1 可看出:在试验周期内,各处理组种群均呈现先增长达到峰值后再下降的趋势。0~24 h 内,各处理组处于平衡阶段;试验进行至 24 h 时,0.8 g/L 处理组和 0.4 g/L 处理组种群密度显著高于对照组($P < 0.01$);24~144 h 内,各处理组均呈种群增长趋势,试验进行至 144 h 时,0.8 g/L 处理组和 0.4 g/L 处理组与对照组差异显著,而 1.2 g/L 处理组与对照组差异不显著;0.8 g/L 处理组种群密度显著高于其他各处理组,此时对照组出现种群最高峰。144~192 h 内,各处理组种群增长处于平衡阶段,0.4 g/L 处理组、0.8 g/L 处理组和 1.2 g/L 处理组在试验进行至 168 h 时分别达到种群最高密度,且 0.8 g/L 处理组种群最高密度最大;试验进行至 192 h 时,各处理组与对照组差异显著。192~264 h 阶段内,各处理组均出现下降的趋势,对照组种群密度显著低于其他各处理组。



各处理组间标不同小写字母表示差异显著($P < 0.01$),标相同小写字母表示差异不显著($P > 0.01$)。下同。Different letters indicate the significant differences ($P < 0.01$) among the treatments, whereas the same ones indicate no statistical significant differences ($P > 0.01$). The same as below.

图 1 不同时间段不同质量浓度牛磺酸对轮虫种群增长的影响

Fig. 1 Population growth of *B. rotundiformis* enriched with four levels of taurine during 264 h batch culture

2.2 不同质量浓度牛磺酸对轮虫种群日平均增长率的影响

从图 2 可以看出:各试验组在 0~24 h 时呈现不同增长速率后趋于平衡。6 h 时,0.8 g/L 处理组的日平均增长率显著高于对照组和 1.2 g/L 处理组;12 h 时,1.2 g/L 处理组日平均增长率与对照

组差异显著,而 0.8 g/L 处理组和 0.4 g/L 处理组差异不显著;24 h 时,各处理组与对照组差异显著。24~72 h 内,0.4 g/L 处理组和 0.8 g/L 处理组在 48 h 时出现最大日平均增长率,对照组和 1.2 g/L 处理组在 72 h 时达到最大日平均增长率。48 h 时,各处理组与对照组差异显著,0.8 g/L 处理组日平

均增长率显著大于对照组;72 h 时,1.2 g/L 处理组与对照组差异不显著。72~264 h 阶段内,各试验组日平均增长率趋于相同趋势。日平均增长率以对照组最高(0.253 0),出现在试验的 144 h,但其他各处理组的种群最高密度较对照组高,出现峰值的时间较对照组晚,其中 0.8 g/L 处理组的种群最高密度最大。

2.3 不同质量浓度牛磺酸对轮虫怀卵率的影响

由图 3 看出:6~72 h 阶段内,各试验组怀卵率均呈现先升高后下降的趋势,且各试验组怀卵率均在 24 h 达到此时间段的最大值。试验进行至 12 h 时,对照组怀卵率显著高于各处理组,但各处理组间

差异不显著;24 h 时,1.2 g/L 处理组怀卵率显著高于对照组,0.4 g/L 处理组、0.8 g/L 处理组与对照组差异显著。72~168 h 阶段内,各组怀卵率出现不规则变化。72 h 时,对照组与 1.2 g/L 处理组差异不显著,对照组与 0.4 g/L 处理组、0.8 g/L 处理组差异显著,0.4 g/L 处理组与 0.8 g/L 处理组差异不显著;168 h 时对照组与 0.8 g/L 处理组差异不显著,与 0.4 g/L 处理组和 1.2 g/L 处理组差异显著,0.8 g/L 处理组与 0.4 g/L 处理组差异不显著,与 1.2 g/L 处理组则差异显著。168~264 h 阶段内,各试验组怀卵率出现下降趋势,264 h 时各试验组差异显著。

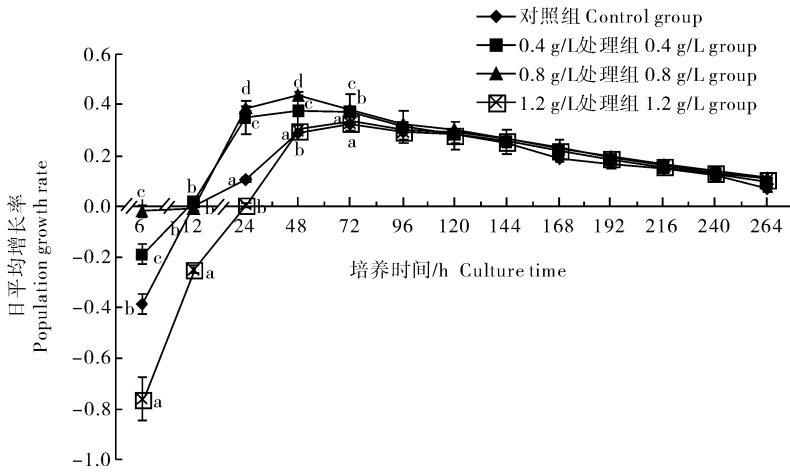


图 2 不同质量浓度牛磺酸水平下轮虫的日平均增长率

Fig. 2 Population growth rate of *B. rotundiformis* enriched with different levels of taurine during 264 h batch culture

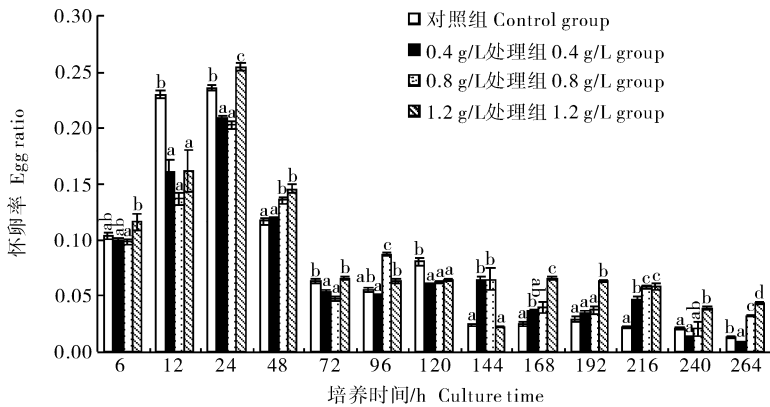


图 3 不同质量浓度牛磺酸对轮虫怀卵率的影响

Fig. 3 Egg ratio of *B. rotundiformis* enriched with four levels of taurine during 264 h batch culture

3 讨论

3.1 牛磺酸对轮虫种群增长的影响

牛磺酸作为动物的条件性半必需氨基酸,参与

维持机体免疫功能,提高机体的特异性和非特异性免疫^[9]。魏智清等^[10]通过试验证明 0.005 g/L 牛磺酸溶液增强泥鳅抗缺氧效果明显,而对于麦穗鱼以 0.005、0.1 g/L 质量浓度的牛磺酸效果最为明

显。加入适当浓度的牛磺酸,能增强麦穗鱼抗缺氧的能力,延长其在缺氧环境下的存活时间。王秋荣等^[11]通过牛磺酸强化后的轮虫投喂眼斑拟石首鱼仔鱼,证明添加 0.8 g/L 牛磺酸可影响仔鱼的生长与抗应激能力。日本沼虾的饲料中添加适量的牛磺酸可以促进沼虾体内的酚氧化酶活性,进而提高其免疫能力^[12]。日粮中的牛磺酸可以促进黄条鰯幼鱼^[13]和欧洲鲈^[14]生长;Conceincao 等^[4]发现大菱鲆幼体的生长与日粮中牛磺酸的含量呈正相关,进而说明牛磺酸对于鱼类生长有促进作用。研究结果显示,在试验周期内,0.4 g/L 处理组和 0.8 g/L 处理组轮虫种群增长及其日平均增长率皆显著高于对照组($P < 0.01$),这说明添加适宜浓度的牛磺酸可能促进轮虫的种群生长。牛磺酸添加到水体后对轮虫的种群增长产生影响的原因主要有两方面,一方面牛磺酸可能直接作用于轮虫,有相关学者研究证实,在轮虫体内发现了淀粉酶、纤维素酶、胃蛋白酶等酶类^[15],而牛磺酸在某些条件下可以促进与消化相关的激素分泌。试验过程中 0.4 g/L 处理组和 0.8 g/L 处理组轮虫种群增长显著高于对照组,可能由于添加牛磺酸后,促进了轮虫体内消化酶(胃蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶等)的活性,进而促进轮虫的摄食强度,促进种群的增长。另一方面试验水体中存在大量微生物,这些微生物中包括部分细菌,细菌多是单细胞生物,牛磺酸参与细胞膜主要成分磷脂的代谢,具有直接膜稳定作用,并可抑制溶酶体内组织蛋白酶的漏出^[16],试验添加的牛磺酸可能通过对细胞膜的作用影响了某些细菌的生长及繁殖,为轮虫提供了更丰富的饵料,从而促进轮虫的种群增长。在试验的 0~24 h,0.4 g/L 处理组和 0.8 g/L 处理组种群幅增长趋势较对照组平缓,这应该是由于添加适量的牛磺酸能够减少轮虫种群产生的应激现象。1.2 g/L 处理组在试验初期种群增长低于对照组,很可能是由于牛磺酸的过量添加引起轮虫应激死亡现象,进而抑制其种群增长。在试验的 24~144 h 阶段,1.2 g/L 处理组轮虫种群数量及种群日平均增长率低于 0.4 g/L 处理组和 0.8 g/L 处理组,但与对照组差异不显著,而在试验进行至 144 h 后,1.2 g/L 处理组轮虫种群数量及种群日平均增长率皆高于 0.4 g/L 处理组和对照组,其原因可能是牛磺酸随着时间的变化在水体中的浓度逐渐变化,高浓度的牛磺酸在水体中保留时间长,能够继续维持对轮虫种群的作用。0.8 g/L 处理组在试验进

行至 168 h 后,其种群下降过程中种群密度及日平均增长率仍高于各组,原因是该组在试验期内种群密度基数高于其他各组。

3.2 牛磺酸对轮虫种群繁殖的影响

试验进行至 6~24 h,各处理组怀卵率均呈现逐渐升高的趋势,对照组轮虫怀卵率与各处理组怀卵率差异显著,此试验结果显示,添加适量的牛磺酸对于轮虫的怀卵率有影响。牛磺酸作为一种含硫氨基酸添加至水体时,可能引起了水体环境因子变化,导致轮虫繁殖产生应激现象,因而接种初期添加牛磺酸后,对照组怀卵率较其他各组高,但是试验后期对照组怀卵率低于各处理组,可能由于轮虫对于添加牛磺酸的水体表现出了适应。试验进行至 24~96 h 时,1.2 g/L 处理组轮虫怀卵率呈现整体高于各处理组的趋势,这与此时 1.2 g/L 处理组轮虫的种群密度增长迅速的趋势是一致的,可能是由于牛磺酸随着在水体中作用时间而逐渐减少,由较高浓度转变为适宜轮虫生长的促生长状态的浓度。而在试验进行至 48 h 时,各处理组怀卵率均大于对照组,可能由于轮虫适应了牛磺酸添加水体的环境,进而促进其繁殖,但其影响机制有待于探讨。

研究结果显示,通过添加适量的牛磺酸可以直接或间接地减少轮虫接种初期由于水环境变化引起的种群死亡,促进轮虫种群增长和繁殖,但牛磺酸作为添加剂对轮虫种群增长及繁殖的作用机制仍有待于进一步研究。本试验条件下又发现,试验进行至 24 h 前,1.2 g/L 处理组种群增长率低于对照组,但在试验进行至 24 h 后,1.2 g/L 处理组与对照组种群增长差异不显著,因此牛磺酸在水体中的浓度是否会随着时间变化有待于进一步的试验证实。

参 考 文 献

- [1] 刘晓军,李珏声,沈芳兰.牛磺酸对大鼠蛋白质利用率、生长发育和辨别学习能力的影晌[J].营养学报,1996,18(2):149-154.
- [2] KIM S K, TAKEUCHI T, YOKO M, et al. Effect of dietary taurine levels on growth and feeding behavior of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. Aquaculture, 2005, 73(4):765-774.
- [3] GIBSON T G, BARROWS F T, APRIL M, et al. Supplementation of taurine and methionine to all-plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 2007, 269:514-524.
- [4] CONCEONCAO, LE C, VAN D M, et al. Amino acid metabo-

- lism and protein turnover in larval turbot (*Scophthalmus maximus*) fed natural zooplankton or Artemia[J]. Marine Biology, 1997, 129: 255-265.
- [5] ZHANG D M, YOSHIMATSU T, MITSUHIRO F. Effects of L-carnitine enrichment on the population growth, egg ratio and body size of the marine rotifer, *Brachionus rotundiformis* [J]. Aquaculture, 2005, 19(4): 51-57.
- [6] 蔺丽丽, 宋丹, 陈玉珂, 等. 饵料配比、接种密度及盐度对圆型臂尾轮虫 *Brachionus rotundiformis* 种群增长和繁殖的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2010, 32(4): 453-459.
- [7] 王金秋, 李德尚. 酵母及与藻类搭配对蓴花臂尾轮虫饵料效果的研究[J]. 应用生态学报, 1998, 9(3): 301-304.
- [8] 陈学豪, 吴钟强. 小球藻营养液投喂轮虫效果的研究[J]. 福建农业学报, 2005, 20(S): 21-24.
- [9] 曾得寿, 黄冠庆, 高振华, 等. 牛磺酸对动物免疫功能的影响[J]. 饲料工业, 2007, 28(5): 20-23.
- [10] 魏智清, 于洪川, 邱小琼, 等. 牛磺酸对泥鳅、麦穗鱼抗缺氧能力的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2005(10): 72-73.
- [11] 王秋荣, 竹内俊郎, 陈振湘. 牛磺酸强化轮虫对眼斑拟石首鱼仔鱼的投喂效果[J]. 集美大学学报, 2006, 11(4): 301-304.
- [12] 刘媛, 王维娜, 王安利, 等. 牛磺酸对日本沼虾生长及酚氧化酶活性的影响[J]. 淡水渔业, 2005, 35(2): 28-30.
- [13] MATSUNARI H, TAKEUCHI T, TAKAHASHI M, et al. Effect of dietary taurine supplementation on growth performance of yellowtail juveniles *Seriola quinqueradiata* [J]. Fish Science, 2005, 71: 1131-1135.
- [14] BROTONS M J, CHATZIFOTIS S, DIVANACH P, et al. The effect of dietary taurine supplementation on survival, growth performance and feed selection of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fry fed with demand feeders [J]. Fish Science, 2004, 70: 74-79.
- [15] KUHLE K, KLEINOW W. Measurement of hydrolytic enzyme in homogenates from *Brachionus plicatilis* (Rotifera) [J]. Comp Biochem Physiol, 1985, 81: 437-442.
- [16] 杨占军. 人体内一种不容忽视的氨基酸——牛磺酸[J]. 生物学杂志, 2000, 17(1): 33-34.

Effects of taurine enrichment on population growth and reproduction of rotifer, *Brachionus rotundiformis*

ZHU Cheng-cheng¹ CHEN Yu-ke¹ DONG Xiao-qing¹ DONG Jing² ZHANG Dong-ming¹

1. College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

2. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China

Abstract Effects of taurine enrichment on the population growth and reproduction of rotifer, *Brachionus rotundiformis* were studied. Rotifers were enriched with 4 levels (each with 4 repetitions) of taurine, 0, 0.4, 0.8, 1.2 g/L, respectively and the culture lasted for 264 h. The results showed that the population growth of rotifer in the treated groups were significantly different from the control ($P < 0.01$) and the population density was significantly higher in the 0.8 g/L group than in the other groups ($P < 0.01$) during the culture period. The population density and growth rate reached the maximum at 144 h in the control and at 168 h in the treated groups, with the highest density appeared in the 0.8 g/L group. The population growth decreased significantly in the control ($P < 0.01$) after 168 h. The egg ratio of the control increased rapidly during 0-24 h and decreased rapidly during 168-264 h. While in the treated groups, the egg ratio increased and decreased slowly. In conclusion, taurine could be a positive factor to enhance reproduction and population growth of rotifers and the optimal concentration was 0.8 g/L.

Key words taurine; *Brachionus rotundiformis*; population density; population growth rate; reproduction; egg ratio