



牛磺酸缓解脂质氧化日粮对黄河鲤生长性能和肠道健康的负面影响

刘丹¹, 米佳丽², 王俊丽¹, 闫潇², 秦超彬²,
杨丽萍², 徐歆歆², 聂国兴^{2*}

(1. 河南师范大学生命科学学院, 河南新乡 453007;

2. 河南师范大学水产学院, 河南新乡 453007)

摘要: 为了探究牛磺酸对脂质氧化饲料饲喂下黄河鲤生长性能和肠道健康的影响, 实验先用等量的氧化鱼油 (记为 OFO) 替换基础日粮 (记为 FO) 中的新鲜鱼油, 接着将不同含量 (0.4%、0.8% 和 1.2%, 质量分数) 的牛磺酸分别加入 OFO 组饲料中 (分别记为 T0.4、T0.8 和 T1.2), 对初始体重为 (8.74±0.01) g 的黄河鲤进行为期 10 周的养殖实验。结果显示, 与 FO 组相比, OFO 组的终末体重、增重率、特定增长率和饲料效率均显著降低。上述所有指标在 T0.4、T0.8 和 T1.2 组中均显著高于 OFO 组。适量牛磺酸可抑制氧化脂质饮食引起的 *nrf2* mRNA 表达水平的降低和 *keap1* mRNA 表达水平的升高, 并且显著提高受 Nrf2 调控的下游转录因子 (*gr*、*gpx* 和 *sod*) 的 mRNA 表达水平。牛磺酸还能缓解氧化脂质饲料引起的肠道消化酶活性、绒毛高度、绒毛宽度和肌层厚度的降低。另外, OFO 组中肠道微生物组成的丰度和多样性显著降低, 条件致病菌丰度明显升高, 而有益菌的丰度却有所下降, 这些不良现象在牛磺酸组中均得到明显改善。研究表明, 牛磺酸可缓解脂质氧化饲料对黄河鲤造成的生长性能抑制、肠道组织结构破坏、消化功能下降及肠道菌群紊乱等不良影响。结合本研究结果, 在氧化脂质饲料中牛磺酸的添加剂量为 0.4%~0.8%。本研究为进一步探索牛磺酸对鱼类肠道的生物学功能奠定理论基础。

关键词: 黄河鲤; 牛磺酸; 脂质氧化; 生长性能; 肠道健康

中图分类号: S 963.73⁺¹

文献标志码: A

脂质作为鱼类饲料中必不可少的营养素, 为鱼类生长发育提供必需营养物质, 是鱼类重要的能量来源^[1]。然而, 脂类在饲料的制备、加工和储存过程中会产生许多氧化产物, 主要包括初级氧化产物 (氢过氧化物) 和次级氧化产物 (羟醛), 会对水产动物的健康造成严重伤害^[2]。鱼油是商业饲料中最重要的脂质来源之一, 因其富含长链

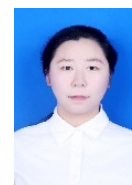
多不饱和脂肪酸 (主要是 DHA 和 EPA), 较其他油源更容易被氧化^[3]。氧化脂质不仅会损伤细胞生物膜、破坏饲料的营养成分, 对水产动物的健康也会产生许多负面影响^[2]。据报道, 用脂质氧化饲料饲喂拉氏鲮 (*Rhynchocypris lagowski*) 会显著降低其生长性能、饲料效率和蛋白质效率^[4]。此外, 脂质氧化饲料也会对鱼类肠道健康带来不良影响。

收稿日期: 2023-12-24 修回日期: 2024-03-01

资助项目: 国家自然科学基金 (32072991, U22A20532); 河南省现代农业产业技术体系建设专项 (HARS-22-16-G2); 河南师范大学创新科技队伍建设项目 (2020TD02)

第一作者: 刘丹 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 2104183007@stu.htu.edu.cn

通信作者: 聂国兴, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: niegx@htu.cn



研究表明, 用氧化脂质饲料饲喂尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 12 周后, 会降低其抗氧化水平, 破坏肠道的结构完整性, 诱导肠道炎症, 引起肠道菌群的失调^[5]。因此, 有必要寻找合适的饲料添加剂来缓解脂质氧化饲料对鱼类带来的不利影响。

牛磺酸 (2-氨基乙基磺酸) 是从牛胆汁中首次发现的一种以游离氨基酸形式存在的非蛋白氨基酸, 占总氨基酸库的 30%~50%^[6-7]。水产养殖研究的最新进展强调了饲料中牛磺酸对水生动物多种生理功能的重要性, 包括促进黄鳝 (*Monopterus albus*) 和鲤 (*Cyprinus carpio*) 的生长性能^[8-9], 改善革胡子鲶 (*Clarias gariepinus*) 的抗氧化和免疫能力^[10], 提高虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 的细胞渗透调节能力^[11]。此外, 牛磺酸对鱼类肠道健康也有重要的调节作用。在高碳水化合物饲料中添加牛磺酸可以提高黄鳝肠道菌群的多样性^[8]。添加牛磺酸可降低氧化鱼油饲料对肠道微生物组成和种群间相互作用的负面影响, 恢复鱼类肠道菌群的功能^[12]。但是对牛磺酸在鱼类肠道健康方面的研究仍然非常有限, 有待进一步研究。本研究以黄河鲤鱼为对象, 从生长性能、抗氧化性能、消化能力、肠道组织形态以及微生物组成的角度, 探究牛磺酸对氧化脂质饲料饲喂下黄河鲤鱼生长性能和肠道健康的影响。此外, 本研究为脂质氧化饲料对水产动物的危害提供了有效应对策略, 并为进一步研究牛磺酸对鱼类肠道健康调节提供了理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

以鱼粉为主要蛋白源、鱼油为主要脂肪源、小麦粉为糖源制作 5 组等氮等脂饲料。本实验所用的正常鱼油购自新乡东祥化工有限公司, 氧化鱼油由正常鱼油制备。参考 Long 等^[13] 描述的方法制备氧化鱼油。基础对照饲料中添加 3% 正常鱼油, 其余 4 组饲料中分别添加等量氧化鱼油和 0%、0.4%、0.8% 和 1.2% 牛磺酸。表 1 展示具体的饲料配方。将饲料原料粉碎后, 过 60 目筛, 采用逐级混匀的方法均匀混合, 制成 1.5 mm 粒径的饲料, 待自然风干后保存于 -20 °C 冰箱中。

1.2 实验管理及样品采集

由河南省水产科学研究院提供实验用黄河鲤, 在漯河养殖基地户外大型鱼塘的网箱中进行养殖

实验。正式实验前, 所有实验鱼用商品饲料 (购于通威股份有限公司) 驯化 2 周以适应环境。选取 225 尾初始体重为 (8.74±0.01) g, 大小均一、体格健全的黄河鲤, 随机分为 5 个实验组, 共 15 个网箱 (2.0 m×2.0 m×1.5 m), 每个实验组设置 3 个重复。每天按体重的 3%~5% 分 3 次投喂 (每天 7: 30、11: 30 和 17: 30), 根据每周实验鱼体重对投喂量进行调整, 持续 10 周。养殖期间, 水体溶解氧含量为 (9.0±1.1) mg/L, 水温为 26~28 °C、pH 为 7.4±0.2、亚硝酸盐浓度小于 0.1 mg/L、氨氮含量小于 0.2 mg/L。本实验获得河南师范大学动物实验伦理委员会的授权 (HNSD—2024BS—0108), 实验过程中操作人员严格遵守河南师范大学伦理规范, 并按照河南师范大学动物实验伦理委员会制定的规章制度执行。

养殖实验结束禁食 24 h 后, 用麻醉剂 (MS-222, 0.02%) 麻醉实验鱼, 记录每个网箱实验鱼总数和体重, 并随机测量其中 3 尾实验鱼的体长, 然后解剖并分离出完整的肠道, 取中肠的相同部位 (约 1 cm) 固定于 4% 多聚甲醛溶液, 用来对肠道组织形态进行分析。每个处理组选择 9 条实验鱼, 在冰上解剖后迅速分离肝胰脏和肠道, 立即放入无菌无酶 1.5 mL 离心管中, 在液氮中短暂冷冻, 保存于 -80 °C 用于实时荧光定量 PCR 分析。各实验组随机选取 3 尾实验鱼, 用无菌解剖工具在冰上分离黄河鲤肠道组织, 并小心取出内容物, 混匀装入 1.5 mL 无菌离心管后保存于 -80 °C, 用来进行肠道菌群 16S *rRNA* 测序。

1.3 氧化鱼油的制备

制备实验饲料之前, 按照 Long 等^[13] 描述的方法制备氧化鱼油: 将 400 g 正常鱼油放入 500 mL 烧杯中, 插入空气泵管, 在 55 °C 恒温水浴中持续加热搅拌 5 d。氧化过程结束后, 按照中国食品安全国家标准 (GB/T 5009.37—2003) 对鱼油的过氧化值进行测定, 每份饲料和鱼油样品均重复测定 3 次, 新鲜鱼油的过氧化值为 (2.51±0.11) meq O₂/kg, 氧化鱼油的过氧化值为 (175.39±3.83) meq O₂/kg。

1.4 饲料常规成分的检测

根据 Mi 等^[14] 描述的方法对饲料的水分、粗蛋白、粗脂肪和粗灰分进行检测。在 -50 °C 下将饲料冷冻干燥至恒重以检测水分。分别用凯氏定氮法 (GB/T 6432—2018), 索氏提取仪 (SX-360,

表 1 实验组饲料配方及营养组成

Tab. 1 Experimental group feed formula and nutritional composition

%

组分 ingredients	新鲜鱼油组 normal fish oil group		氧化鱼油饲料中牛磺酸添加水平 taurine addition levels in oxidized fish oil diets		
	FO	OFO	T0.4	T0.8	T1.2
鱼粉 fish meal	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
棉籽粕 cottonseed meal	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
豆粕 soybean meal	14.00	14.00	14.00	14.00	14.00
菜籽粕 rapeseed meal	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00
小麦粉 wheat meal	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
新鲜鱼油 fresh fish oil	3.00	0.00	0.00	0.00	0.00
氧化鱼油 oxidized fish oil	0.00	3.00	3.00	3.00	3.00
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
维生素混合物 vitamins mix ¹⁾	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
矿物质混合物 minerals mix ²⁾	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
赖氨酸 lysine	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	11.83	11.83	11.43	11.03	10.63
牛磺酸 taurine	0.00	0.00	0.40	0.80	1.20
总计 total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养物质 proximate composition					
粗蛋白 crude protein	38.89	38.57	38.42	38.72	38.10
粗脂肪 crude lipid	8.50	8.65	8.94	8.88	8.74
粗灰分 crude ash	9.30	9.32	9.13	9.29	9.16
水分 moisture	8.57	8.86	8.93	8.64	8.97

注: 1)每千克维生素预混料中含有视黄醇1 980 mg, 胆钙化醇660 mg, 生育酚30 000 mg, 甲萘醌9 000 mg, 硫胺素1 800 mg, 核黄素2 880 mg, L-抗坏血酸20 000 mg, 吡哆素18 000 mg, 钴胺素20 mg, 叶酸3 000 mg, 生物素60 mg, 烟酸42 000 mg, D-泛酸钙18 000 mg, 肌醇24 000 mg。2)每千克矿物质预混料中含铁20 000 mg, 锌32 000 mg, 铜12 000 mg, 锰40 000 mg, 碘800 mg, 硒400 mg。
Notes: 1) Each kilogram of vitamin premix contains retinol 1 980 mg, cholecalciferol 660 mg, tocopherol 30,000 mg, menadione 9,000 mg, thiamine 1,800 mg, riboflavin 2,880 mg, L-ascorbic acid 20,000 mg, pyridoxine 18,000 mg, cobalamin 20 mg, folic acid 3 000 mg, biotin 60 mg, niacin 42 000 mg, D-calcium pantothenate 18 000 mg, inositol 24 000 mg. 2) Each kilogram of mineral premix contain 20,000 mg of iron, 32,000 mg of zinc, 40,000 mg of manganese, 12,000 mg of copper, 800 mg of iodine, and 400 mg of selenium.

OP SIS, 瑞典)和550 °C马弗炉煅烧法(GB/T 212—2008)来测定饲料中粗蛋白、粗脂肪和粗灰分的含量。

1.5 生长性能相关指标的计算

按照下列公式对生长性能相关指标进行计算:

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

$$\text{成活率 (GR, \%)} = N_t / N_0 \times 100\%$$

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

$$\text{饲料效率 (FE, \%)} = (W_t - W_0) / F \times 100\%$$

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

式中, W_0 和 W_t 分别表示初始体重和终末体重(g), N_0 和 N_t 分别代表初始实验鱼和终末实验鱼尾数, t 为养殖周期(d), F 为摄食量(g), L 为体长(cm)。

1.6 肠道的消化酶活性测定

肠道组织的总蛋白(total protein, TP, 货号A045-4-2)、胰蛋白酶(trypsin, 货号A080-2-1)、

淀粉酶(amylase, AMS, 货号C016-1-1)和脂肪酶(lipase, LPS, 货号C016-1-1)均使用南京建成生物工程研究所的试剂盒,按照相应的说明书进行检测。

1.7 肠道组织形态的分析

从固定液中取出肠道组织后,用PBS缓冲液冲洗3遍,用不同浓度的乙醇溶液逐级脱水,用二甲苯溶液进行透明处理,最后将样品包埋固定于石蜡中。用切片机(ZEISS, 德国)将石蜡组织块连续切成5 μm薄片后,用苏木精-伊红染色试剂盒(索莱宝,北京)进行染色。最终使用光学显微镜(Carl Zeiss Micro GmbH, 德国)对切片进行观察和拍照,用ZEN 2 lite软件测量肠绒毛长度、肠绒毛宽度和肌层厚度。

1.8 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)

样品的总RNA用trizol试剂(TaKaRa, 日本)

提取后, 分别用分光光度计 (Nano Drop 2 000C) 和 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的浓度和质量。使用 PrimeScript™ RT Reagent 试剂盒 (TaKaRa, 日本) 去除基因组 DNA 并反转录。用 LightCycler 480 仪器 (Roche, 瑞士) 测定所有基因的 mRNA 表达水平, 反应体系为: 5 μ L 2 \times ChamQ Universal

SYBR qPCR Master Mix (诺唯赞, 中国), 0.3 μ L 正向引物和 0.3 μ L 反向引物, 0.1 μ L cDNA 模板和 4.3 μ L 无菌水。扩增程序为: 95 $^{\circ}$ C 下 3 min, 95 $^{\circ}$ C 下 30 s, 循环 40 次。以 18S *rRNA* (18S) 作为内参, 具体引物序列如表 2 所示。

表 2 实时荧光定量 PCR 引物序列

Tab. 2 The primers of qRT-PCR

基因名称 genes	序列(5'-3') sequence (5'-3')	退火温度/ $^{\circ}$ C annealing temperature	基因片段大小/bp gene fragment size	基因编号 accession no.
<i>sod</i>	F: GTCCGCACTTCAACCCTCAT R: ATGGTCTCCCAATGACCGA	60.32 60.62	169	XM_019111527.2
<i>cat</i>	F: TTCCTGTGGGACGCCTTGT R: TCCGAGCCGATGCCTATGT	61.45 60.83	170	XM_042715094.1
<i>gpx</i>	F: AACCAGTTCGGACATCA R: ATCACCCATCAAGGACA	52.55 51.68	204	MZ562974.1
<i>gr</i>	F: TGGCTGGTATCCTTTCC R: TGTCGTGAGGGTCTTTT	52.65 52.47	213	XM_042770144.1
<i>keap1</i>	F: CAGTGGCGAGAAGTGT R: TTTGATGGCTCCAGGTT	56.36 52.76	112	JX470752.1
<i>nrf2</i>	F: ACGACAAATGCCGAAGT R: CTGCCTCATCTAGTGAAA	54.21 53.81	115	MW838201.1
18S	F: GAGACTCCGGCTTGCTAAAT R: CAGACCTGTTATTGCTCCATCT	57.68 57.85	107	XR_006156358.1

1.9 肠道菌群 16S *rRNA* 测序

对黄河鲤肠道内容物样本进行 16S *rRNA* 测序分析, 该工作由上海派森诺生物科技股份有限公司执行。原始序列通过质量初筛后, 按照 index 和 Barcode 进行文库和样本划分, 并去除 barcode 序列。通过 QIIME2 dada2 的分析流程进行序列 OTU 聚类。采用 QIIME2 的 classify-sklearn 算法进行物种注释分析 (<https://github.com/QIIME2/q2-feature-classifier>)。使用 QIIME2 (2019.4) 软件, 对未抽平的 OUT 数据进行抽平处理, 分析菌群 alpha 多样性 (Chao1 index、Observed species、Shannon index 和 Simpson index)。依据序列物种分类学注释的结果, 统计所有样本在门水平和属水平的分布情况。最后使用 R 语言和 pheatmap 软件包, 根据丰度排名前 15 的差异菌属制作物种组成热图。

1.10 数据分析

用 SPSS 23.0 软件 (IBM, 美国) 对实验数据进行独立样本 *t* 检验分析 (students' *t*-test), 结果用平均值 \pm 标准误 (mean \pm SE) 表示。用 GraphPad 6.02 软件 (GraphPad Software Inc., 美国) 进行图形表示。OFO 组与 FO 组的独立方差 *t* 检验结果用星号“*”

表示, T0.4、T0.8 和 T1.2 组与 OFO 组的独立方差 *t* 检验结果用井号“#”表示。显著性水平设为 $P<0.05$, 用“*”或者“#”表示。极显著水平设为 $P<0.01$, 用“**”或者“##”表示。

2 结果

2.1 生长性能

相比于 FO 组, OFO 组的 FBW、WGR、SGR 和 FE 均显著降低 ($P<0.05$)。对比 OFO 组, T0.4 组和 T0.8 组中上述指标均显著得到提高 ($P<0.05$), T1.2 组的 FE 和 FBW 也显著上升 ($P<0.05$)。各组之间的 SGR 和 CF 没有显著差异 ($P>0.05$) (表 3)。

2.2 抗氧化相关基因表达水平

与氧化鱼油组相比, 添加 0.8% 牛磺酸可显著提高肠道组织中 *gpx* 和 *gr* mRNA 表达水平 ($P<0.05$)。肝胰脏中抗氧化相关基因表达结果显示, 与正常鱼油组相比, 氧化鱼油显著下调了 *gr* mRNA 的表达 ($P<0.05$)。与氧化鱼油组相比, 添加 3 种不同浓度的牛磺酸均显著上调 *gr* mRNA 的表达 ($P<0.05$)。各处理组中, T0.4 组肝胰脏 *sod* 和 *gpx* mRNA 表达水平最高, 显著高于 OFO 组 ($P<0.05$)。

表 3 各实验组黄河鲤鱼生长性能

Tab. 3 Growth performance of *C. carpio* in all experimental groups

项目 items	新鲜鱼油组 normal fish oil group		氧化鱼油饲料中牛磺酸添加水平 taurine addition levels in oxidized fish oil diets		
	FO	OFO	T0.4	T0.8	T1.2
初始体重/g IBW	8.75±0.03	8.72±0.05	8.78±0.03	8.71±0.01	8.77±0.02
终末体重/g FBW	91.35±1.92	84.44±0.55*	88.91±0.85#	87.59±0.33#	87.28±0.85#
存活率/% SGR	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00
增重率/% WGR	944.36±24.51	868.19±1.46*	913.28±12.14#	905.59±5.16#	895.69±11.55
特定增长率/(d%) SGR	3.35±0.03	3.24±0.01*	3.31±0.02#	3.30±0.01#	3.28±0.02
饲料效率/% FE	79.82±1.88	73.17±0.49*	77.44±0.64#	76.22±0.33#	75.86±0.84#
肥满度/(g/cm ³) CF	2.68±0.05	2.52±0.02	2.85±0.20	2.81±0.19	2.53±0.03

注：“*”和“**”分别代表OFO组与FO组之间有显著差异($P<0.05$)或极显著差异($P<0.01$)。“#”和“##”分别代表T0.4、T0.8或T1.2组与OFO组之间有显著差异($P<0.05$)或极显著差异($P<0.01$)，下同。
Notes: “*” and “**” represent significant differences ($P<0.05$) or extremely significant differences ($P<0.01$) between OFO group and FO group, respectively. “#” and “##” represent significant ($P<0.05$) or extremely significant differences ($P<0.01$) between T0.4, T0.8 or T1.2 groups and OFO group, respectively; the same below.

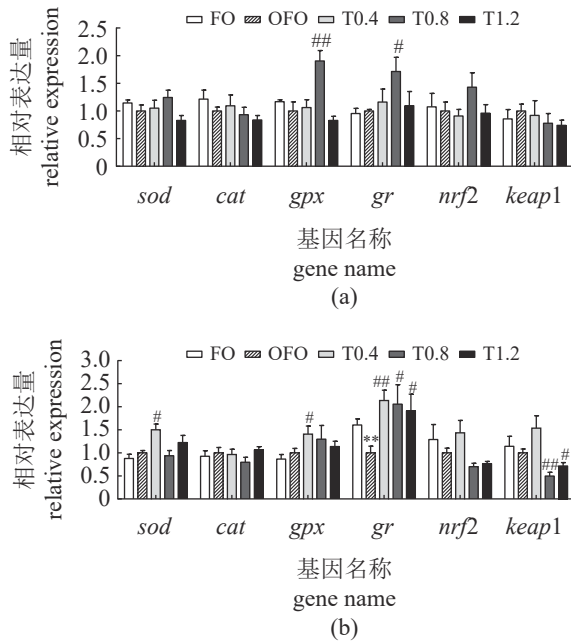


图 1 各实验组黄河鲤鱼肠道 (a) 和肝胰脏 (b) 抗氧化相关基因的相对表达量

Fig. 1 Relative expression levels of antioxidant-related genes in the intestinal (a) and hepatopancreas (b) of *C. carpio* in every group

另外, 肝胰脏 *keap1* mRNA 表达水平在 T0.8 组和 T1.2 组中显著低于其在 OFO 组中的表达水平 ($P<0.05$) (图 1)。

2.3 肠道消化酶活性

OFO 组中的脂肪酶和淀粉酶活性分别显著 ($P<0.05$) 和极显著 ($P<0.01$) 低于 FO 组, 说明氧化鱼油降低了黄河鲤的消化能力。相比于 OFO 组, 脂肪酶活性在添加牛磺酸后均极显著提高 ($P<0.01$)。胰蛋白酶活性在 T0.8 组达到最高水平, 并极显著高于 OFO 组 ($P<0.01$) (表 4)。

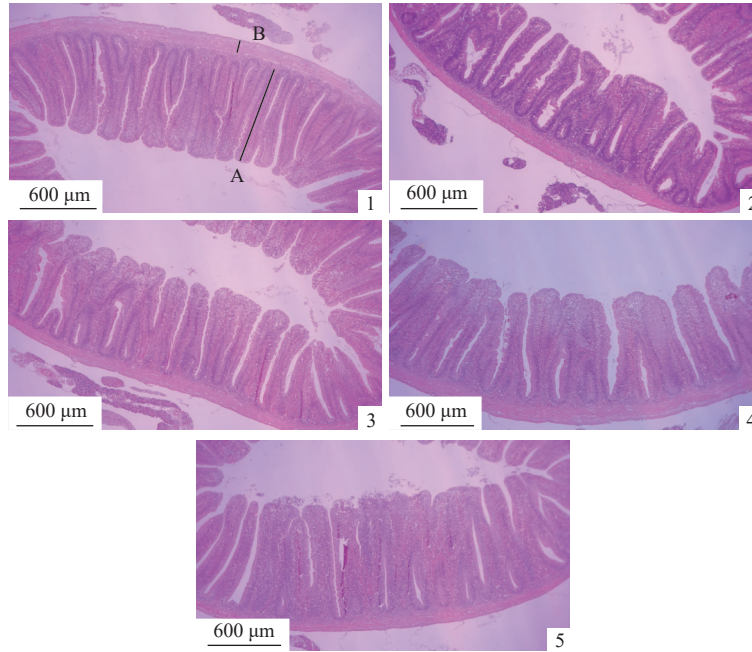
2.4 肠道组织形态

饲料中添加氧化鱼油破坏了中肠组织结构的完整性, 补充牛磺酸可缓解氧化鱼油对中肠组织结构的破坏 (图版)。相比于 FO 组, OFO 显著降低了中肠绒毛高度、绒毛宽度以及肌层厚度 ($P<0.05$)。反之, 补充牛磺酸后上述指标均提高, 其中, 添加 1.2% 牛磺酸可显著增加肠绒毛高度和宽度 ($P<0.05$), 添加 0.8% 牛磺酸可显著增加中肠肌层厚度 ($P<0.05$) (表 5)。

表 4 各实验组黄河鲤鱼肠道消化酶活性

Tab. 4 Intestinal digestive enzyme activities of *C. carpio* in every group

项目 items	正常鱼油组 normal fish oil group		氧化鱼油饲料中牛磺酸添加水平/% taurine addition levels in oxidized fish oil diets		
	FO	OFO	T0.4	T0.8	T1.2
脂肪酶/(U/mg prot) lipase	11.50±0.40	10.24±0.43*	12.66±0.52##	12.19±0.42##	12.84±0.68##
淀粉酶/(U/mg prot) amylase	14.35±0.68	10.55±0.60**	13.81±1.52	12.00±1.20	11.43±1.90
胰蛋白酶/(10 ³ U/mg prot) trypsin	48.02±11.21	52.96±10.03	52.60±8.43	100.10±7.78##	65.37±7.78



图版 各实验组黄河鲤中肠组织结构图

1-5 分别代表 FO、OFO、T0.4、T0.8 和 T1.2 组；A 和 B 分别代表肠绒毛高度和肌层厚度。

Plate Midgut tissue morphological structure of *C. carpio* in every group

1-5 respectively represent FO, OFO, T0.4, T0.8 and T1.2 groups; A and B represent intestinal villus height and muscular thickness, respectively.

2.5 肠道菌群

FO、OFO、T0.4、T0.8 和 T1.2 组 OTU 数目分别为 8 647、6 285、5 668、7 995、6 547 个，其中共有的 OTU 数目为 314 个，各自独有的 OTU 数目分别为 8 333、5 971、5 354、7 681 和 6 233 个 (图 2)。分析黄河鲤肠道菌群 α-多样性指数发现，OFO 组 Observed species 指数和 Simpson 指数显著低于 FO 组 ($P < 0.05$)，Shannon 指数极显著低于 FO 组 ($P < 0.01$)。相比于 OFO 组，Shannon 指数在 T0.8 组中显著增高 ($P < 0.05$)，Chao1 指数在 T0.8 组和 T1.2 组均显著提高 ($P < 0.05$)。补充牛磺酸后 Observed species 指数均高于 OFO 组 ($P > 0.05$) (图 3)。

黄河鲤的肠道微生物在门水平上主要由厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria)、放线

菌门 (Actinobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 组成 (图 4-a)。与正常鱼油组相比，氧化鱼油组厚壁菌门 (从 60.98% 下降到 20.18%)、放线菌门 (从 11.06% 下降到 5.56%)、拟杆菌门 (10.00% 下降到 4.10%) 的相对丰度显著降低，而变形菌门 (从 8.58% 上升到 57.13%) 的相对丰度显著上升。在属水平上，气单胞菌属 (*Aeromonas*) 和乳酸菌属 (*Lactobacillus*) 为丰度最高的属 (图 4-b)。

为了进一步比较不同处理组间的物种组成差异，筛选出丰度排名前 15 的差异菌属并制作了相对丰度热图 (图 5)。结果显示，OFO 组中梭杆菌属 (*Fusobacterium*)、气单胞菌属、梭菌属 (*Clostridium*)、分枝杆菌属 (*Mycobacterium*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 的相对丰度比 FO 组高，而乳酸菌属、别样棒菌属 (*Allobac-*

表 5 各实验组黄河鲤肠绒毛高度、宽度和肌层厚度

Tab. 5 Intestinal villus height, intestinal villus width and muscle thickness of *C. carpio* in all experimental groups μm

项目 items	正常鱼油组 normal fish oil group		氧化鱼油饲料中牛磺酸添加水平/% taurine addition levels in oxidized fish oil diets			
	FO	OFO	T0.4	T0.8	T1.2	
绒毛高度 villus height	1264.93±23.93	1094.33±51.28*	1143.11±71.00	1193.78±86.87	1281.89±39.84#	
绒毛宽度 villus width	269.73±20.81	202.35±11.06*	252.44±25.74	254.39±19.20	278.50±5.71##	
肌层厚度 muscular thickness	195.63±3.41	134.76±13.61*	170.62±39.71	210.08±16.27#	142.71±13.28	

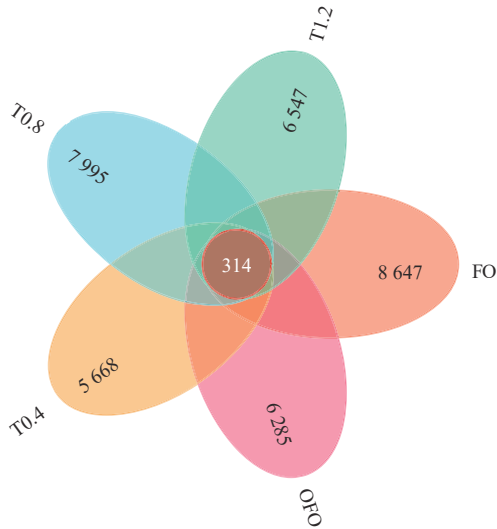


图2 黄河鲤肠道微生物 OTU 韦恩图
Fig. 2 OTU Venn diagram of intestinal microbiota in *C. carpio*

梭杆菌属 (*Fusobacterium*)、普雷沃氏菌属 (*Prevotella*)、鲸杆菌属 (*Cetobacterium*)、布劳特氏菌属 (*Blautia*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*)、阿克曼氏菌属 (*Akkermansia*) 的相对丰度比 FO 组低。补充 0.8% 牛磺酸后, 梭杆菌属、

气单胞菌属、分枝杆菌属、梭菌属的丰度均显著降低, 乳酸菌属、别样棒菌属、布劳特氏菌属、普雷沃氏菌属、阿克曼氏菌属、拟杆菌属、鲸杆菌属的丰度均明显得到提高。另外, 在氧化鱼油饲料中补充 4%~12% 牛磺酸后, 肠道中芽孢杆菌属和不动杆菌属的丰度均明显降低。

3 讨论

3.1 牛磺酸可提高脂质氧化饲料饲喂下黄河鲤的生长性能

在本研究中, 使用脂质氧化日粮饲喂黄河鲤后, 会表现出较低的成长性能和饲料效率。这与在其他水生动物中的报道基本一致^[4, 15]。抑制生长的原因可能是脂质氧化过程中产生的醛类、酮类和酸类等有害物质降低了饲料的营养价值, 从而降低黄河鲤的饲料效率, 导致生长性能下降^[15]。脂质氧化产生的有害物质会引起体内氧化应激, 破坏动物生理稳态, 抑制生长^[5]。进一步研究发现, 在脂质氧化饲料中补充牛磺酸会促进黄河鲤的生长性能, 提高饲料效率。与本研究结果一致

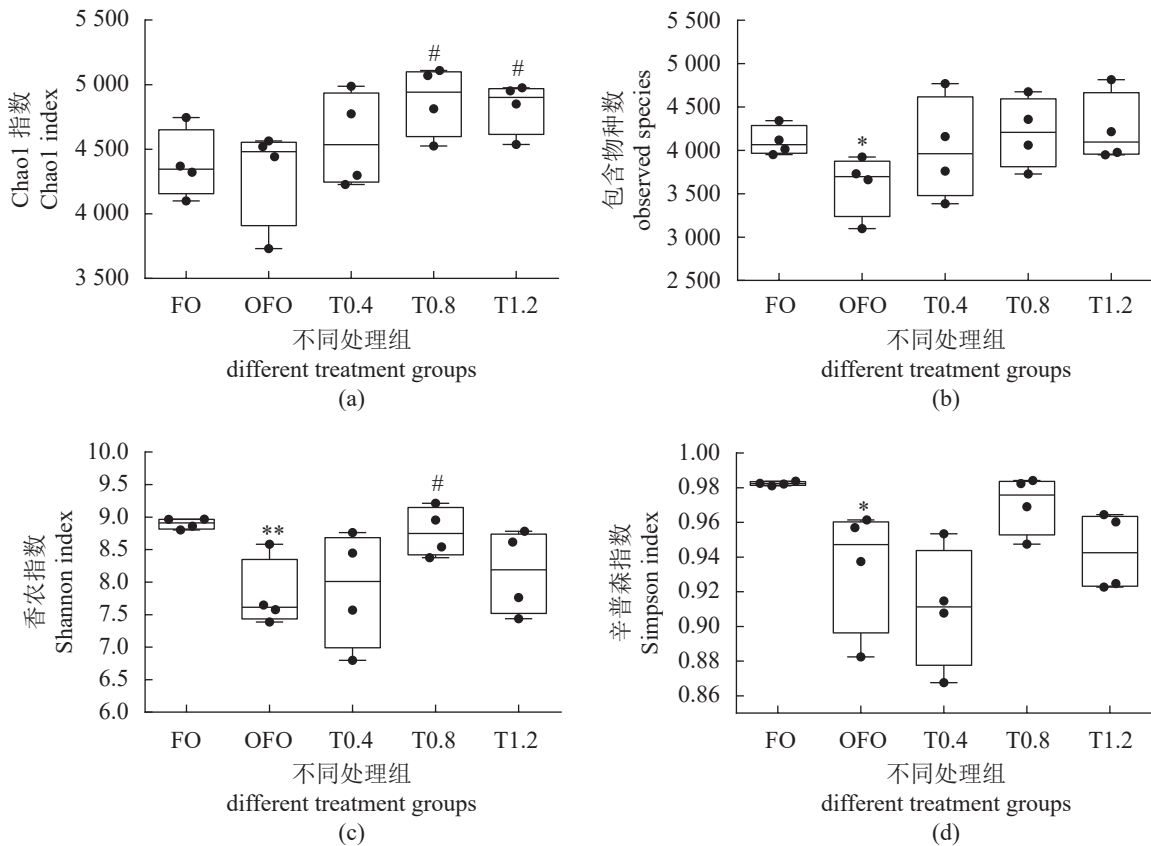


图3 黄河鲤肠道微生物 α 多样性

Fig. 3 Alpha-diversity of intestinal microbiota in *C. carpio*

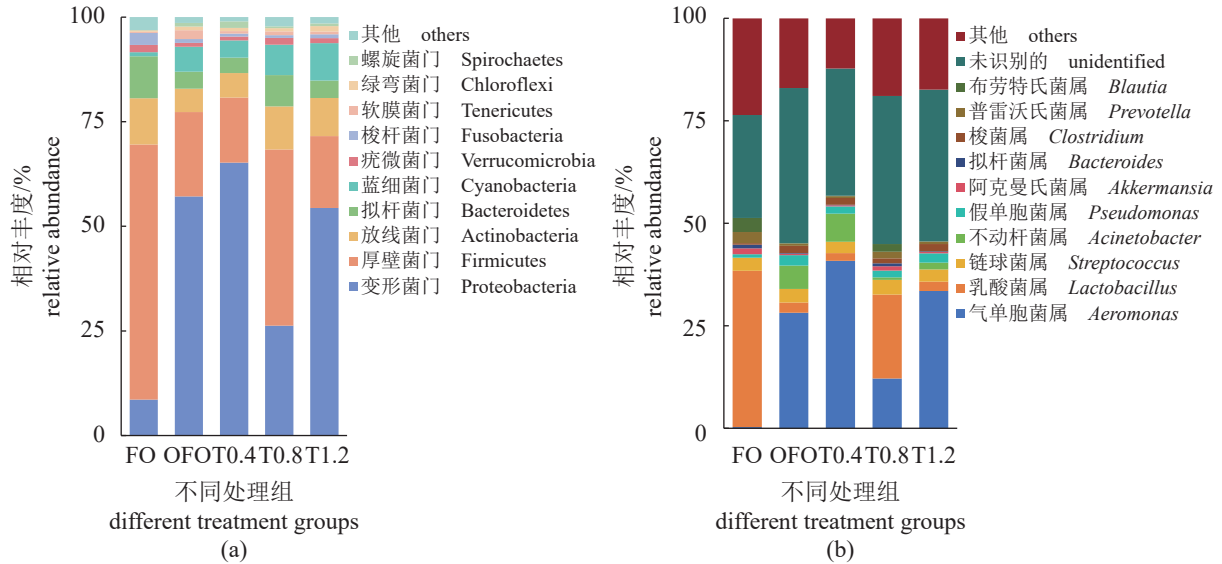


图 4 在门 (a) 和属 (b) 水平上的黄河鲤肠道微生物相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of intestinal species of *C. carpio* at phylums (a) and genus (b) levels

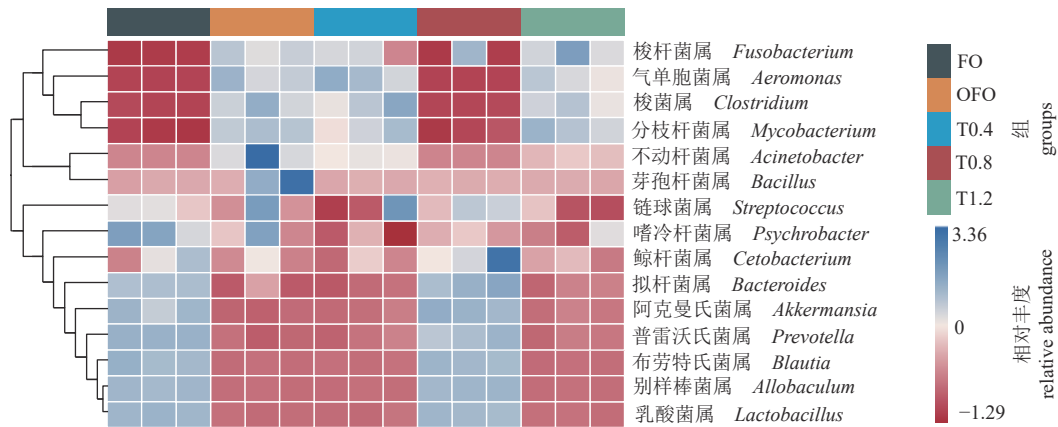


图 5 黄河鲤肠道菌群中差异菌属的聚类热图

蓝色代表相对丰度较高, 颜色越深表示相对丰度越高; 红色代表相对丰度较低, 颜色越深代表相对丰度越低。

Fig. 5 Clustering heat map of differential bacterial genera in the gut microbiota of *C. carpio*

Blue represents the relative abundance is higher, the darker the color the higher the relative abundance; red represents lower relative abundance, and darker colors represent lower relative abundance.

的是, 在高植物蛋白饲料^[10]、高碳水化合物饲料^[8]及正常配合饲料^[16]中补充一定量的牛磺酸, 均可改善水产动物的生长性能。牛磺酸促进生长的能力可能归因于其对抗氧化能力的提高和肠道消化酶活性的增强^[9]。

3.2 牛磺酸可改善脂质氧化饲料饲喂下黄河鲤的抗氧化水平

抗氧化能力与生长密切相关, 可以反映水生动物的健康状况^[17]。在抗氧化防御系统中, 谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx)、过氧化氢酶 (CAT) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 可以保护机体抵抗氧化应激,

是重要的抗氧化酶, 并受到相应基因的调控^[18]。有研究表明, 氧化脂质饲料饲喂虹鳟 12 周后, 显著降低了其肝胰脏 *cat*、*gpx* 等抗氧化相关基因表达水平^[19]。此外, 氧化鱼油饲料对黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 的肠道带来了严重的氧化损伤, 降低了 *sod* 和 *cat* mRNA 表达水平, 抑制了抗氧化酶的活性^[20]。牛磺酸作为一种抗氧化剂, 可以显著降低氧化鱼油对鱼类组织的氧化损伤^[6]。饲料中添加牛磺酸可以提高黄鳍棘鲷 (*Acanthopagrus latus*) 的生长速率, 同时提高鱼的抗氧化能力和消化酶活性^[21]。在本研究中, 脂质氧化饲料降低了肝胰脏 *gr* mRNA 的表达水平, 但是补充牛磺酸提

高了肝胰脏和肠道组织中 *gpx* 和 *gr* mRNA 表达水平。这表明在脂质氧化饲料中补充牛磺酸可以改善黄河鲤的抗氧化性能, 进而有利于鱼体健康。

3.3 牛磺酸可提高脂质氧化饲料饲喂下黄河鲤的肠道消化能力

消化酶是指消化系统和消化腺分泌的酶, 可促进营养物质的消化和吸收, 是反映鱼类消化能力、营养状况和生长性能的重要指标^[22]。脂肪酶、淀粉酶和胰蛋白酶是鱼类肠道的主要消化酶。脂肪酶可促进肠道对食物中脂肪的消化和吸收, 尤其是三酰甘油^[23]。淀粉酶参与膳食碳水化合物的分解, 其活性取决于鱼类的食性^[24]。胰蛋白酶在蛋白质水解过程中起关键作用, 同时也参与氨基酸的消化过程^[24]。在对半滑舌鳎 (*Cynoglossus semilaevis*) 幼鱼的研究中发现, 鱼类生长性能与胰蛋白酶和脂肪酶的活性密切相关^[25]。在本研究中, 氧化鱼油可显著抑制鱼类肠道中淀粉酶和脂肪酶的活性, 推测这可能是降低黄河鲤生长性能的主要原因。在对尼罗罗非鱼^[5]和罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*)^[26]的研究中也得到类似的结果。在本研究中, 添加牛磺酸后可显著提高消化酶活性, 缓解脂质氧化饲料对脂肪酶和淀粉酶活性的抑制作用。在以往的研究中发现, 饲料中添加牛磺酸可以提高黄河鲤肠道消化能力, 促进饲料中碳水化合物、脂肪和蛋白质的分解, 从而提高饲料利用率, 最终提高鱼类的生长性能^[9]。有理由推测, 消化酶活性的增强提高了食物的消化率, 从而提高了营养物质的利用率, 这可部分解释牛磺酸提高生长性能的原因。

3.4 牛磺酸可缓解脂质氧化饲料对黄河鲤肠道组织的损伤

肠道是鱼类消化吸收营养物质的主要场所, 其消化水平与组织形态和微生物组成密切相关^[27]。肠道绒毛高度、绒毛宽度和肌层厚度是评估肠道健康状态和功能的重要指标, 肠绒毛面积越大, 肠道吸收面积就越大, 机体的消化吸收能力也就越强^[28]。本研究发现, 氧化鱼油降低了黄河鲤肠道绒毛高度、绒毛宽度和肌层厚度, 这表明饲料中氧化鱼油可破坏肠道形态结构的完整性, 减少营养物质吸收的表面积。在对尼罗罗非鱼^[5]的研究中也发现, 氧化鱼油饲料可降低肠绒毛的高度和宽度。对团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*)^[15]的研究表明, 氧化鱼油饲料明显损伤了肠道组织

结构。进一步研究发现, 补充牛磺酸可提高肠绒毛高度和宽度, 改善肠道组织形态。与本研究结果一致的是, 在高脂肪日粮中添加牛磺酸, 显著增加了黄鳊肠道绒毛的长度, 减轻了高脂饮食对肠道物理屏障的损伤^[29]。牛磺酸添加组中鲤的肠道组织形态明显得到改善, 说明牛磺酸有效地缓解了氧化鱼油对肠道的损伤, 能够更好地促进营养物质的吸收和利用, 这些结果与消化酶活性测定结果一致。

3.5 牛磺酸可缓解脂质氧化饲料对黄河鲤造成的肠道菌群紊乱

肠道微生物组被生动地描述为宿主的外部器官或第二基因组^[30], 通过影响宿主肠道功能从而影响宿主健康, 在动物宿主的营养、免疫和防御功能中发挥着重要作用^[31]。Alpha 多样性是判断肠道微生物群落动态平衡的重要指标之一, 其中 Observed species 和 Chao1 指数分别表示微生物群落的 OTU 数和物种丰度。微生物群落的多样性常用 Simpson 和 Shannon 指数来表征。在本研究中, 脂质氧化饲料显著降低了肠道微生物群落的 Observed species、Shannon 和 Simpson 指数, 表明脂质氧化饲料可降低肠道菌群的物种多样性和丰度, 这与对黄鳊的研究结果一致^[12]。在本研究中, 补充牛磺酸可明显提高肠道菌群物种丰度和多样性。进一步分析菌群的具体组成发现, 黄河鲤的优势菌门主要由变形菌门和厚壁菌门组成, 这与对大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*) 的研究结果相一致^[32]。有研究表明, 变形菌门的相对丰度增加与肠道疾病和菌群失调密切相关^[33]。厚壁菌门和拟杆菌门的大部分微生物具有分解碳水化合物的能力, 参与食物的消化吸收和代谢, 可提高宿主的消化能力^[28]。与正常鱼油组相比, 氧化鱼油组中变形菌门的丰度大幅度提升, 而拟杆菌门和厚壁菌门的丰度却明显下降, 初步证明脂质氧化饲料可改变黄河鲤肠道菌群的组成。

条件致病菌和益生菌的比例失调, 会破坏肠道的稳定状态, 诱导各种肠道疾病的发生^[32]。有报道称, 乳酸菌是一种益生菌, 能够产生丁酸, 广泛应用于水产养殖中, 具有提高生长性能、免疫力、抗氧化能力和抗病能力的作用^[34]。鲸杆菌属能产生维生素 B₁₂, 在一定程度上可抑制病原菌的繁殖, 增强机体的免疫能力, 是鲤肠道的优势菌群^[35]。阿克曼氏菌能促进鲤的糖原合成和糖酵解相关基因的表达, 提高葡萄糖的转运能力^[36]。

普雷沃氏菌可协助分解蛋白质和碳水化合物, 提高机体对糖类的吸收和利用^[37]。拟杆菌属则参与肠道的消化过程, 可以分泌大量蛋白以分解多糖和代谢糖类物质^[38]。气单胞菌是鲤肠道中最常见的致病菌, 鱼类感染后会出现败血症、肠炎和皮肤溃烂等疾病, 严重威胁鱼类的健康^[39]。不动杆菌和分枝杆菌是大多数鱼类的条件致病菌, 会威胁鱼类的机体健康^[40]。本研究发现, 脂质氧化饲料可降低乳酸菌属、普雷沃氏菌属、鲸杆菌属、阿克曼氏菌属和拟杆菌属的丰度, 提升不动杆菌属、气单胞菌属和分枝杆菌属的丰度, 这说明脂质氧化饲料会减少有益菌丰度, 增加条件致病菌丰度, 导致肠道菌群紊乱。在对杂交石斑鱼 [褐点石斑鱼 (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀) × 鞍带石斑鱼 (*E. lanceolatus* ♂)] 的研究中得到相反的结果, 在脂质氧化饲料的应激下, 乳酸菌的丰度不仅没有减少反而增加^[41]。造成这一现象的原因可能是肠道菌群通过增加乳酸菌含量来应对肠道的氧化应激, 但具体机制有待进一步研究。本研究表明, 在氧化脂质饲料中添加牛磺酸可恢复黄河鲤肠道菌群组成, 改善脂质氧化饲料带来的肠道菌群紊乱。这一结果与牛磺酸在黄鳝肠道菌群中的研究结果一致^[12]。

综上所述, 脂质氧化饲料可抑制黄河鲤的生长, 降低抗氧化和消化能力。然而, 补充适量牛磺酸可以促进黄河鲤的生长性能、提高抗氧化和消化能力。此外, 牛磺酸可通过提升有益菌丰度, 降低条件致病菌丰度来缓解氧化脂质诱导的肠道组织损伤和肠道菌群的紊乱, 维持肠道内环境的稳态。本研究中, 结合生长性能、消化水平、肠道形态学指标和肠道菌群组成, 在氧化鱼油饲料中的牛磺酸适宜添加剂量为 0.4%~0.8%。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Sargent J, Bell G, McEvoy L, *et al.* Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish[J]. *Aquaculture*, 1999, 177(1-4): 191-199.
- [2] Fontagné-Dicharry S, Lataillade E, Surget A, *et al.* Antioxidant defense system is altered by dietary oxidized lipid in first-feeding rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 2014, 424-425: 220-227.
- [3] Liu D, Chi S Y, Tan B P, *et al.* Effects of fish oil with difference oxidation degree on growth performance and expression abundance of antioxidant and fat metabolism genes in orange spotted grouper, *Epinephelus coioides*[J]. *Aquaculture Research*, 2019, 50(1): 188-197.
- [4] Chen X M, Wang Q J, Guo Z X, *et al.* Effects of dietary oxidized fish oil on growth performance and antioxidant defense mechanism of juvenile *Rhynchocypris lagowski* Dybowski[J]. *Aquaculture*, 2019, 512: 734368.
- [5] Yu L J, Wen H, Jiang M, *et al.* Effects of ferulic acid on intestinal enzyme activities, morphology, microbiome composition of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed oxidized fish oil[J]. *Aquaculture*, 2020, 528: 735543.
- [6] Salze G P, Davis D A. Taurine: a critical nutrient for future fish feeds[J]. *Aquaculture*, 2015, 437: 215-229.
- [7] Jacobsen J G, Smith L H Jr. Biochemistry and physiology of taurine and taurine derivatives[J]. *Physiological Reviews*, 1968, 48(2): 424-511.
- [8] Shi Y, Zhong L, Zhong H, *et al.* Taurine supplements in high-carbohydrate diets increase growth performance of *Monopterus albus* by improving carbohydrate and lipid metabolism, reducing liver damage, and regulating intestinal microbiota[J]. *Aquaculture*, 2022, 554: 738150.
- [9] Abdel-Tawwab M, Monier M N. Stimulatory effect of dietary taurine on growth performance, digestive enzymes activity, antioxidant capacity, and tolerance of common carp, *Cyprinus carpio* L., fry to salinity stress[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2018, 44(2): 639-649.
- [10] Adeshina I, Abdel-Tawwab M. Dietary taurine incorporation to high plant protein-based diets improved growth, biochemical, immunity, and antioxidants biomarkers of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.)(J). *Fish Physiology and Biochemistry*, 2020, 46(4): 1323-1335.
- [11] Huang M, Yang X G, Zhou Y E, *et al.* Growth, serum biochemical parameters, salinity tolerance and antioxidant enzyme activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to dietary taurine levels[J]. *Marine Life Science & Technology*, 2021, 3(4): 449-462.

- [12] Peng M, Luo H J, Kumar V, *et al.* Dysbiosis of intestinal microbiota induced by dietary oxidized fish oil and recovery of diet-induced dysbiosis via taurine supplementation in rice field eel (*Monopterus albus*)[J]. *Aquaculture*, 2019, 512: 734288.
- [13] Long S S, Dong X H, Tan B P, *et al.* The antioxidant ability, histology, proximate, amino acid and fatty acid compositions, and transcriptome analysis of muscle in juvenile hybrid grouper (♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *Epinephelus lanceolatus*) fed with oxidized fish oil[J]. *Aquaculture*, 2022, 547: 737510.
- [14] Mi J L, Liu D, Qin C B, *et al.* Dietary (-)-Epicatechin supplementation regulates myofiber development, fillet quality, and antioxidant status of Yellow River carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Aquaculture*, 2023, 572: 739542.
- [15] Song C Y, Liu B, Xu P, *et al.* Oxidized fish oil injury stress in *Megalobrama amblycephala*: evaluated by growth, intestinal physiology, and transcriptome-based PI3K-Akt/NF-κB/TCR inflammatory signaling[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 81: 446-455.
- [16] Yan L C, Feng L, Jiang W D, *et al.* Dietary taurine supplementation to a plant protein source-based diet improved the growth and intestinal immune function of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019, 25(4): 873-896.
- [17] Gong Y L, Yang F, Hu J P, *et al.* Effects of dietary yeast hydrolysate on the growth, antioxidant response, immune response and disease resistance of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 94: 548-557.
- [18] Song D Y, Yun Y H, He Z J, *et al.* Effects of faba bean (*Vicia faba* L.) on fillet quality of Yellow River carp (*Cyprinus carpio*) via the oxidative stress response[J]. *Food Chemistry*, 2022, 388: 132953.
- [19] Fontagné-Dicharry S, Larroquet L, Dias K, *et al.* Effects of dietary oxidized fish oil supplementation on oxidative stress and antioxidant defense system in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 74: 43-51.
- [20] Liu G H, Zhang D G, Lei X J, *et al.* Effects of dietary selenium and oxidized fish oils on intestinal lipid metabolism and antioxidant responses of yellow catfish *Pel-*
teobagrus fulvidraco[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(10): 1904.
- [21] Dehghani R, Oujifard A, Mozanzadeh M T, *et al.* Effects of dietary taurine on growth performance, antioxidant status, digestive enzymes activities and skin mucosal immune responses in yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus*[J]. *Aquaculture*, 2020, 517: 734795.
- [22] Haghparasta R J, Moghanlou K S, Mohseni M, *et al.* Effect of dietary soybean lecithin on fish performance, hemato-immunological parameters, lipid biochemistry, antioxidant status, digestive enzymes activity and intestinal histomorphometry of pre-spawning Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 91: 50-57.
- [23] Cai Z N, Feng S H, Xiang X J, *et al.* Effects of dietary phospholipid on lipase activity, antioxidant capacity and lipid metabolism-related gene expression in large yellow croaker larvae (*Larimichthys crocea*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2016, 201: 46-52.
- [24] Kolkovski S. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles—implications and applications to formulated diets[J]. *Aquaculture*, 2001, 200(1-2): 181-201.
- [25] Fang Z H, Tian X L, Dong S L. Effects of starving and re-feeding strategies on the growth performance and physiological characteristics of the juvenile tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*)[J]. *Journal of Ocean University of China*, 2017, 16(3): 517-524.
- [26] Gao Q, Liu B, Shan F, *et al.* Effects of oxidized fish oil on digestive enzyme activity and antioxidant system in *Macrobrachium rosenbergii* post-larvae[J]. *Aquaculture Reports*, 2022, 23: 101062.
- [27] Nedaei S, Noori A, Valipour A, *et al.* Effects of dietary galactooligosaccharide enriched commercial prebiotic on growth performance, innate immune response, stress resistance, intestinal microbiota and digestive enzyme activity in narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823)[J]. *Aquaculture*, 2019, 499: 80-89.
- [28] 刘欣平, 董文静, 黄汉, 等. 饲料中高直链淀粉对大口黑鲈肠道物理屏障和菌群的影响 [J]. *水产学报*, 2023, 47(10): 109601.
- Liu X P, Dong W J, Huang H, *et al.* Effects of dietary

- high amylose on intestinal health of *Micropterus salmoides*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2023, 47(10): 109601 (in Chinese).
- [29] Shi Y, Zhong L, Zhong H, *et al.* Taurine supplements in high-fat diets improve survival of juvenile *Monopterus albus* by reducing lipid deposition and intestinal damage[J]. *Aquaculture*, 2022, 547: 737431.
- [30] Stephens R W, Arhire L, Covasa M. Gut microbiota: from microorganisms to metabolic organ influencing obesity[J]. *Obesity*, 2018, 26(5): 801-809.
- [31] 孟晓林, 李文均, 聂国兴. 鱼类肠道菌群影响因子研究进展 [J]. *水产学报*, 2019, 43(1): 143-155, Meng X L, Li W J, Nie G X. Effect of different factors on the fish intestinal microbiota[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(1): 143-155 (in Chinese).
- [32] 余桂娟, 杨沛, 戴济鸿, 等. 饲料中添加大豆皂甙对大菱鲆幼鱼生长和肠道健康的影响 [J]. *水产学报*, 2019, 43(4): 1104-1115. Yu G J, Yang P, Dai J H, *et al.* Effects of dietary soyasaponins on the growth performance and intestinal health of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(4): 1104-1115 (in Chinese).
- [33] Shin N R, Whon T W, Bae J W. *Proteobacteria*: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota[J]. *Trends in Biotechnology*, 2015, 33(9): 496-503, .
- [34] Kong Y D, Gao C S, Du X Y, *et al.* Effects of single or conjoint administration of lactic acid bacteria as potential probiotics on growth, immune response and disease resistance of snakehead fish (*Channa argus*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 102: 412-421.
- [35] Tsuchiya C, Sakata T, Sugita H. Novel ecological niche of *Cetobacterium somerae*, an anaerobic bacterium in the intestinal tracts of freshwater fish[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2008, 46(1): 43-48.
- [36] Yang G K, Jiang A X, Cai H M, *et al.* Supplementation with *Akkermansia muciniphila* improved glucose metabolism disorder in common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. *Aquaculture*, 2023, 572: 739465.
- [37] Wu G D, Chen J, Hoffmann C, *et al.* Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes[J]. *Science*, 2011, 334(6052): 105-108.
- [38] Liu Y, Chen Z C, Dai J H, *et al.* The protective role of glutamine on enteropathy induced by high dose of soybean meal in turbot, *Scophthalmus maximus* L.[J]. *Aquaculture*, 2018, 497: 510-519.
- [39] Sanyal K B, Mukherjee D, Guchhait A, *et al.* Phenotypic and molecular identification of bacterial species in Indian major carps and exotic carps from south 24 Parganas, West Bengal, India[J]. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2018, 7(1): 534-547.
- [40] Walczak N, Puk K, Guz L. Bacterial flora associated with diseased freshwater ornamental fish[J]. *Journal of Veterinary Research*, 2017, 61(4): 445-449.
- [41] Long S S, You Y, Dong X H, *et al.* Effect of dietary oxidized fish oil on growth performance, physiological homeostasis and intestinal microbiome in hybrid grouper (♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *Epinephelus lanceolatus*)[J]. *Aquaculture Reports*, 2022, 24: 101130.

Taurine alleviated the negative effects of lipid oxidation diet on growth performance and intestinal health of Yellow River carp (*Cyprinus carpio*)

LIU Dan¹, MI Jiali², WANG Junli¹, YAN Xiao², QIN Chaobin²,
YANG Liping², XU Xinxin², NIE Guoxing^{2*}

(1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;

2. College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: Lipid oxidation is prevalent in fish feed, which reduces the nutritional value of fish feed and damages the health of aquatic animals. Taurine has been extensively studied as a feed additive to promote fish growth and antioxidant capacity, but its effects on intestinal health need further research. To investigate the effects of taurine on the growth performance and intestinal health of the Yellow River carp (*Cyprinus carpio*) fed with a lipid-oxidized diet, a total of 225 *C. carpio* with similar weight at about 8.74 g were randomly divided into five groups: FO, OFO, T0.4, T0.8, and T1.2, respectively. A 10-week feeding trial was performed. The results showed that taurine supplementation alleviated the growth inhibition caused by the OFO diet on *C. carpio*, mainly by improving final body weight (FBW), weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR), and feed efficiency (FE). The oxidized lipid diet inhibited *nrf2* mRNA expression in the hepatopancreas and intestine and promoted the mRNA levels of *keap1* in the intestine. Appropriate taurine addition can inhibit the decrease of *nrf2* mRNA levels and increase of *keap1* mRNA levels induced by the OFO diet. Taurine also increased mRNA levels of antioxidation-related genes (*gr*, *gpx* and *sod*). For example, supplementation of 0.8 g/kg taurine significantly increased intestinal *gr*, *gpx*, and *sod* expression levels. In addition, taurine mitigated the decreased intestinal digestive enzyme activity (lipase, amylase, and trypsin), villus height, villus width, and muscular thickness of the oxidized lipid diet. Moreover, taurine restored the decreased alpha-diversity index (Chao1, observed species, Shannon, and Simpson index) of intestinal flora induced by the oxidized lipid diet. Furthermore, supplementation of 0.8% taurine reversed intestinal flora disturbance caused by the oxidized lipid diet, mainly by reducing the abundance of pathogenic bacteria (*Aeromonas* and *Acinetobacter*, etc.) and increasing the abundance of beneficial bacteria (*Lactobacillus*, *Cetobacterium*, and *Prevotella*, etc.). In conclusion, taurine mitigated the negative effects of lipid oxidized diet on the growth performance and intestinal health of *C. carpio*, and the recommended supplemental level of taurine in the oxidized lipid diet was 0.4%–0.8%. This study lays a theoretical foundation for further exploring the biological function of taurine in fish intestines.

Key words: Yellow River carp (*Cyprinus carpio*); taurine; lipid oxidation; growth performance; intestinal health

Corresponding author: NIE Guoxing. E-mail: niegx@htu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (32072991, U22A20532); Special Fund for Henan Agriculture Research System (HARS-22-16-G2); Innovation Scientists and Technicians Troop Construction Projects of Henan Normal University (2020TD02)