بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد ششم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۶
http://japu.gau.ac.ir

اثر تورین بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ایمنی غیراختصاصی سرم تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

*سید مرتضی حسینی[۱] و سید عباس حسینی[۲]

[۱]استادیار پژوهشی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی، گرگان، [۲]دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده شیلات و محیط زیست، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱/۲۵

چکیده

منابع پروتئین گیاهی دارای مقادیر اندکی تورین هستند؛ لذا استفاده از آن‌ها در جیره ماهی باعث کمبود تورین برای ماهی می‌شود. در این تحقیق، اثر سطوح مختلف تورین جیره بر پاسخ ایمنی خونی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سرمی در تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) مورد مطالعه قرار گرفت. ماهیان آزمایشی به‌مدت ٤٥ روز با جیره‌های حاوی سطوح مختلف تورین (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۸، ۱/۲ و ۱/٦ درصد) تغذیه شدند. پس از یک ماه، از همه تیمارها خونگیری شد و غلظت ایمونوگلبولین کل و فعالیت لیزوزیم، کمپلمان، سوپرکسید دیسموتاز و کاتالاز در سرم اندازه‌گیری گردید. افزایش تورین جیره باعث کاهش غلظت ایمونوگلبولین کل و فعالیت لیزوزیم و کمپلمان شد. همچنین، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسپارتات ترنس آمیناز سرم در گروه ۰/۲۵ درصد تورین از سایر تیمارها کمتر بود. فعالیت آلکالین فسفاتاز سرمی در تیمار شاهد و ۰/۲۵ درصد تورین مشابه و به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود. در نهایت می‌توان گفت که افزودن تورین به میزان ۰/۲۵-۱/٦ درصد به جیره تاس ماهی ایرانی باعث کاهش سطح ایمنی ماهی شد. همچنین، میزان تورین ۱/٦-۰/۵ درصد برای قره برون بالاست و باعث کاهش ایمنی و استرس اکسیداتیو شد. میزان ۰/۲۵ درصد تورین در جیره ماهی تاس ماهی ایرانی باعث کاهش استرس اکسیداتیو شد.

واژه‌های کلیدی: قره برون، اسید آمینه، فیزیولوژی، خون

مقدمه

پرورش‌دهندگان ماهی همیشه به دنبال غذایی هستند که از نظر هزینه و کارایی بهترین حالت را دارا باشد. پودر ماهی یکی از اجزای اصلی پروتئین جیره‌های غذایی در ماهیان است. این ماده به‌علت داشتن الگوی اسیدآمینه مشابه یا نزدیک به بدن ماهی، منبع مناسبی برای پروتئین جیره ماهی محسوب می‌شود. به‌دلیل قیمت بالا و کاهش دسترسی به پودر ماهی، تلاش‌های زیادی در جهت یافتن جایگزین مناسب و ارزان قیمت برای آن در جیره ماهیان

*مسئول مکاتبه: seyyedmorteza.hoseini@gmail.com

پرورشی صورت گرفته است (کوئارتارارو و همکاران، ۱۹۹۸). منابع پروتئین گیاهی از مهم‌ترین جایگزین‌های پودر ماهی محسوب می‌شوند. ماهیان مختلف توانایی متفاوتی در استفاده از پروتئین‌های گیاهی دارند. فرانسیس و همکاران (۲۰۰۱) اعلام کردند که بسته به گونه ماهی، می‌توان ۳۰-۵۰ درصد پودر ماهی را با پروتئین‌های گیاهی جایگزین کرد.

پروتئین‌های گیاهی حاوی تورین (۲- آمینواتان سولفونیک اسید) بسیار کمتری نسبت به پودر ماهی می‌باشند که می‌تواند باعث مشکلاتی در ماهی شود. تورین یک آمین بوده که نقش‌های فیزیولوژیک زیادی را به آن نسبت می‌دهند. این ماده در ساختار پروتئین شرکت نمی‌کند ولی، به میزان زیاد در محیط بین سلولی جانوران یافت می‌شود (هاکستابل، ۱۹۹۲). تورین دارای نقش‌های فیزیولوژیک مهمی مانند مسمومیت‌زدایی، انتقال کلسیم، انقباض میوکارد، نمو مغز و شبکیه چشم، اتصال به رنگدانه‌ها و نمک‌های صفراوی، تنظیم اسمزی و پایداری غشاء در پستانداران می‌باشد (آسم و هنکه، ۱۹۸۳؛ ساکای و همکاران، ۱۹۹۹؛ هاکستابل، ۱۹۹۲؛ تیمبرل و همکاران، ۱۹۹۵). بر خلاف پودر ماهی، منابع پروتئین گیاهی دارای تورین کمی هستند. لذا وقتی در جیره غذایی ماهی، از میزان زیادی پروتئین گیاهی استفاده شود، میزان تورین جیره بسیار پایین خواهد بود.

تورین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان شناخته شده است که از پرکسیداسیون چربی‌ها و اکسیداسیون بین سلولی جلوگیری می‌کند. کمبود تورین باعث اختلال در زنجیره تنفس سلولی و تجمع الکترون دهنده‌ها و تولید سوپراکسید آنیون می‌شود. تورین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان از اکسیداسیون چربی‌های غشاء اریتروسیت‌ها جلوگیری نموده و مقاومت آن‌ها را به فشار اسمزی افزایش می‌دهد (ناکامورا و همکاران، ۱۹۹۳). همچنین، تورین باعث حفاظت از بافت عصبی می‌شود (هاکستابل، ۱۹۹۲). مطالعات اندکی در رابطه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی تورین در ماهیان وجود دارد. ولی مشخص شده که تورین باعث تغییر وضعیت احیائی در بدن ماهی می‌شود، اگرچه مکانیسم دقیق آن مشخص نیست (روزمبرگ و همکاران، ۲۰۱۰؛ بانلوس- وارگاس و همکاران، ۲۰۱٤).

علاوه‌بر خواص آنتی‌اکسیدانی، تورین می‌تواند در عملکرد سیستم ایمنی مؤثر باشد. اگرچه این موضوع در ماهیان بررسی نشده است، ولی در انسان و برخی جانوران دیگر مطالعه شده است. کمبود تورین باعث اختلال در عملکرد سیستم ایمنی می‌شود (شولر لویز و همکاران، ۱۹۹۰). همچنین کمبود تورین در جیره غذایی باعث افزایش سطح گاما گلبولین‌های سرم می‌شود که نشان‌دهنده تأثیر تورین بر عملکرد ایمنی می‌باشد (شولر لویز و همکاران، ۱۹۹۰). گزارش شده که تورین با اسید هیپوکلروس که حاصل از فعالیت میلوپرکسیداز نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها می‌باشد واکنش داده و به توروکلرامین تبدیل می‌شود (ویز و همکاران، ۱۹۸۲؛ گریشام و همکاران، ۱۹۸٤) که یک تنظیم کننده پاسخ ایمنی می‌باشد (شولر لویز و پارک، ۲۰۰٤).

در حال حاضر اطلاعاتی در خصوص اثر تورین بر ایمنی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی در تاس ماهی ایرانی وجود ندارد. این در حالی است که بخش قابل توجهی از پروتئین جیره تجاری این ماهی از منابع گیاهی تأمین می‌شود. به همین دلیل، تاس ماهی ایرانی ممکن است دچار کمبود تورین شود. لذا، هدف این تحقیق بررسی اثر افزودن تورین به جیره بر شاخص‌های ایمنی و آنتی‌اکسیدانی سرم تاس ماهی ایرانی بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در ١٨ تانک هر کدام با با حجم آبگیری ٢٠٠ لیتر انجام شد که به هر کدام از آن‌ها ٧ قطعه ماهی با وزن اولیه ٣٥ گرم به‌صورت تصادفی معرفی گردید. ماهیان ابتدا به‌مدت ١٤ روز با غذای شاهد (جدول ١) تغذیه شدند تا با شرایط آزمایش سازگار گردند. شش جیره آزمایشی در این تحقیق استفاده شد. جیره شاهد حاوی حدود ٤١ درصد پروتئین بود (جدول ١) و به این جیره مقادیر صفر، ٠/٢٥، ٠/٥، ٠/٨، ١/٢ و ١/٦ درصد تورین اضافه شد.

پس از ١٤ روز تغذیه با جیره شاهد و سازگاری با شرایط آزمایش، ماهیان به‌مدت ٤٥ روز توسط جیره‌های آزمایشی (تیمارها) تغذیه شدند. تغذیه به‌صورت روزانه ٢ بار و مجموعاً معادل ١/٥ درصد وزن بدن انجام شد. اندازه‌گیری اکسیژن محلول، pH و دما به‌صورت روزانه انجام شد. آمونیاک، نیتریت، سختی کل و قلیائیت کل آب به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری شدند. جهت اندازه‌گیری پارامترهای آب از اکسیژن‌متر، پی‌اچ متر و فتومتر (وگتک، انگلستان) استفاده شد.

جدول ٢-١- ترکیب جیره پایه مورد استفاده در پرورش تاس ماهی ایرانی

اجزای جیره	درصد	ترکیب تقریبی جیره	
آرد سویا بدون چربی	٢٧	رطوبت (درصد)	٩
آرد ماهی	١٩	پروتئین (درصد)	٤١/٢
گلوتن گندم	١٩	چربی (درصد)	١٩/٧
آرد گندم	١٢/٦٣	کربوهیدرات بدون فیبر (درصد)	٢٠/٦
روغن سویا	١٨	خاکستر (درصد)	٨/٥
مکمل ویتامینی	٠/١٥	فیبر (درصد)	٣/٤
مکمل معدنی	٢	لیزین (درصد)	٢/٢٥
لیزین	٠/٤	متیونین (درصد)	٠/٨٤
متیونین	٠/١	تورین (درصد)	٠/٠٥
فیتاز	٠/٠٢	انرژی خام (کیلوژول بر گرم)	٢٠/٢
سلولز	١/٧		

پس از پایان دوره تغذیه، از هر تیمار ٦ ماهی صید شد و در محلول میخک (١٠٠ میلی‌گرم بر لیتر) بیهوش شدند. سپس نمونه خون توسط سرنگ از ناحیه دم ماهی گرفته و درون لوله‌های پلاستیکی ریخته شد. پس از لخته شدن، نمونه‌ها سانتریفوژ شدند (٣٠٠٠ دور در دقیقه، ٥ دقیقه) و سرم از لخته جدا شد و درون لوله‌های جدید ریخته شد. نمونه‌های سرم در دمای ٨٠- درجه سانتی‌گراد منجمد و تا زمان آزمایشات سرمی در این دما نگهداری شدند.

ترکیب تقریبی جیره به روش ای او ای سی (١٩٩٥) تعیین گردید. مقدار تورین و متیونین جیره به روش کروماتوگرافی و بر اساس روش فلمینگ و همکاران (١٩٩٢) و مک کارتی و همکاران (٢٠٠٠) صورت گرفت. ایمونوگلبولین کل به روش سیویکی و اندرسون (١٩٩٥) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و پس از رسوب توسط پلی‌اتیلن گلایکول اندازه‌گیری گردید. کمپلمان به روش همولیتیک با استفاده از گلبول قرمز گوسفند با پیروی از روش یانو (١٩٩٢) اندازه‌گیری شد. لیزوزیم به

روش کدورت‌سنجی با استفاده از باکتری *Micrococcus luteus* و مطابق با روش الیس (۱۹۹۰) اندازه‌گیری شد. فعالیت سوپرکسید دیسموتاز توسط روش مک کورد و فریدوویچ (۱۹٦۹) و با استفاده از اکسیداسیون زانتاین، و فعالیت کاتالاز به روش آبی (۱۹۸٤) و با استفاده از تجزیه آب اکسیژنه اندازه‌گیری شد.

ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک تایید شد. داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی توسط تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون دانکن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد تعیین شد. تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱٦ انجام گرفت. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شد.

نتایج

لیزوزیم سرم در تیمار شاهد و ۰/۲۵ درصد تورین مشابه هم بود و با افزایش مقدار تورین کاهش یافت و به پایین‌ترین مقدار خود در تیمار ۱/٦ درصد تورین رسید (جدول ۲). فعالیت کمپلمان سرم در تیمار شاهد و ۰/۲۵ درصد تورین مشابه هم بود و با افزایش مقدار تورین کاهش یافت و به پایین‌ترین مقدار خود در تیمار ۱/٦ درصد تورین رسید (جدول ۲). تیمار ۱/٦ درصد تورین، کمترین مقدار فعالیت کمپلمان را دارا بود. ایمونوگلبولین کل سرم در تیمارهای شاهد و ۰/۲۵ درصد تورین مشابه هم بوده و به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارها بالاتر بود. تیمار ۱/٦ درصد تورین کمترین میزان ایمونوگلبولین کل سرم را دارا بود. ایمونوگلبولین کل سرم در تیمارهای ۰/۵، ۰/۸ و ۱/۲ درصد تورین اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۲).

میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز سرمی در تیمار ۰/۲۵ درصد تورین به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود ولی بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲).

جدول ۲: میزان فعالیت آنزیم‌های لیزوزیم (واحد در دقیقه)، کمپلمان (واحد در میلی‌لیتر)، سوپراکسید دیسموتاز (واحد بر میلی‌لیتر) و کاتالاز (واحد بر میلی‌لیتر) و غلظت توتال ایمونوگلبولین (گرم بر دسی‌لیتر) در تاس ماهی ایرانی در تیمارهای مختلف. حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

	لیزوزیم	کمپلمان	توتال ایمونوگلبولین	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز
شاهد	۲۸/۷ ± ۰/۷۳^{a}	۱۳۵ ± ۸/۱٦^{a}	۱/۳۷ ± ۰/۰۹^{a}	۱۱۰/۲ ± ۱۳/۱^{a}	۸/۲٤ ± ۱/۰۲^{a}
۰/۲۵	۲۸/۳ ± ۱/۰۳^{a}	۱٤۱ ± ٦/۹٤^{a}	۱/۲۲ ± ۰/۰٦^{a}	۹۵/۱ ± ۸/۲۲^{b}	۵/۵۷ ± ۰/۸۹^{b}
۰/۵	۲۳/٤ ± ۱/۰٦^{b}	۱۱۰ ± ٦/۵٤^{b}	۰/۱۷ ± ۰/۰۱^{b}	۱۱۵/۳ ± ۱٤/۱^{a}	۷/٦۵ ± ۰/۹۸^{a}
۰/۸	۲٤/۱ ± ۱/۰۲^{b}	۱۱۲ ± ٤/۰۸^{b}	۰/۱۵ ± ۰/۰۱^{b}	۱۰۹/۸ ± ۱۲/۹^{a}	۷/۸۹ ± ۱/۱۰^{a}
۱/۲	۲۱/۹ ± ۰/۸٦^{bc}	۱۰٦ ± ٤/۵۰^{b}	۰/۱٦ ± ۰/۰۱^{b}	۱۱۸/٤ ± ۱۱/۸^{a}	۷/٤۹ ± ۰/۸٤^{a}
۱/٦	۱۹/۸ ± ۰/٦۹^{c}	۹۵/۳ ± ۲/۸٦^{c}	۰/۰۵ ± ۰/۰۱^{c}	۱۰۸/٦ ± ۱۰/۵^{a}	۷/۹۸ ± ۰/۹۷^{a}

بحث

با توجه به مقدار زیاد تورین در بدن ماهیان، این طور استنباط می‌شود که این ماده برای آن‌ها ضروری است. همچنین، با در نظر گرفتن توانایی پایین ماهیان در سنتز تورین از منابع آن (متیونین و سیستئین)، باور

بر این است که ماهیان به تورین موجود در جیره غذایی وابسته می‌باشند (کیم و همکاران، ٢٠٠٨).

در این تحقیق، افزایش تورین جیره (به غیر از تیمار ٠/٢٥ درصد تورین)، باعث کاهش مقدار ایمونوگلبولین کل سرم و فعالیت لیزوزیم و کمپلمان سرمی شد که حاکی از کاهش توان ایمنی در این تیمارها می‌باشد. دلیل این امر می‌تواند بالا بودن مقدار تورین در این تیمارها باشد که باعث بروز مشکلات تغذیه‌ای در این ماهیان شده است. ماهیان در این تیمارها، به نسبت تیمار شاهد غذای کمتری می‌خوردند که این امر می‌تواند باعث کاهش توان ایمنی آن‌ها شود. همچنین، در این تیمارها، ضایعات کبدی مشاهده شد (نتایج نشان داده نشده است) که نشان از بروز نوعی بیماری در این ماهیان دارد. کلیه این موارد در مجموع باعث ضعف عمومی ماهیان و کاهش توان ایمنی در آن‌ها شد.

در این تحقیق از جیره غذایی با پروتئین حیوانی اندک (١٩ درصد پودر ماهی) استفاده شد. با توجه به مقادیر بالای پروتئین گیاهی در جیره (آرد سویا و گلوتن گندم) و کم بودن تورین، فرض شده بود که تورین باعث بهبود عملکرد ماهیان آزمایشی شود. اما، نتایج خلاف این فرضیات را نشان داد. به‌نظر می‌رسد که مقدار تورین اضافه شده به جیره زیاد بوده یا این‌که برهمکنشی بین تورین و دیگر اجزای جیره وجود داشته است که اثر منفی بر ماهیان داشته است. اگرچه در مطالعات پیشین مقدار تورین موردنیاز در جیره ماهیان مختلف بین ٠/٣ تا ٣ درصد گزارش شده، اما این دامنه برای قره برون مناسب نیست و تحقیقات بیشتری در این زمینه لازم است.

در این تحقیق فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سرم با افزایش تورین جیره افزایش یافت. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها نشانه بروز استرس اکسیداتیو است. مطالعات پیشین نشان دادند که تورین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده و از بروز استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌کند (ناکامورا و همکاران، ١٩٩٣؛ بانلوس- وارگاس و همکاران، ٢٠١٤)؛ لذا انتظار می‌رفت تورین باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ماهی قره‌برون شود. علت این تفاوت به‌طور دقیق مشخص نیست ولی ممکن است تورین باعث بروز اختلال تغذیه‌ای در این تحقیق شده باشد. در این تحقیق، افزایش تورین باعث کاهش غذاگیری و کاهش رشد ماهیان آزمایشی شد که چنین نتایجی در مطالعات پیشین روی گونه‌های مختلف ماهی گزارش نشده است. مکانیسم متابولیسم و دفع تورین از بدن ماهیان به درستی شناخته نیست و نیاز به مطالعات بیشتری دارد. با این حال بروز آسیب‌های کبدی در ماهیان این تحقیق حاکی از نامناسب بودن تورین برای ماهی قره‌برون است و احتمالاً اختلالات تغذیه‌ای و استرس اکسیداتیو ایجاد نموده است. تنها در تیمار ٠/٢٥ درصد تورین سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پایین بود که می‌تواند به‌دلیل مقدار مناسب تورین در این تیمار باشد که آثار مثبت خود را به جای گذاشته و باعث کاهش استرس اکسیداتیو شده است.

در نهایت، نتیجه‌گیری می‌شود که افزودن تورین به میزان ٠/٢٥-١/٦ درصد به جیره تاس ماهی ایرانی باعث کاهش سطح ایمنی ماهی می‌شود که به‌دلیل یکسان نبودن میزان غذاگیری بین تیمارها، نمی‌توان گفت که آیا این موضوع ناشی از اثر تورین است یا اثر گرسنگی. همچنین، میزان تورین ١/٦-٠/٥ درصد برای قره برون بالاست و باعث بروز آسیب به کبد و استرس اکسیداتیو می‌شود. میزان ٠/٢٥ درصد تورین در جیره ماهی قره‌برون باعث بروز آسیب به کبد می‌شود ولی استرس اکسیداتیو کمتری ایجاد می‌کند. لذا انجام تحقیقات بیشتر در زمینه اثر تورین بر ماهی قره‌برون توصیه می‌شود.

منابع

1. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105: 121-126.
2. AOAC 1995. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists, ,Washington, DC, USA.
3. Assem, H., and Hanke, W. 1983. The significance of the amino acids during osmotic adjustment in teleost fish—I. Changes in the euryhaline *Sarotherodon mossambicus*. Comparative Biochemistry and Physiology 74A: 531-536.
4. Bañuelos-Vargas, I., López, L.M., Pérez-Jiménez, A., and Peres, H. 2014. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 170:18-25
5. Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Roberson, B.S., Van Muiswinkel W.B. (Eds.), Techniques in fish immunology, SOS Publications, Fair Haven, Pp: 101-103.
6. Fleming, J., Taylor, T., Miller, C., and Woodward, C. 1992. Analysis of complex mixtures of amino acids using the HP 1050 modular HPLC. In: Application Note 228–212, Publication 5091–5615E. Agilent Technologies, Inc Palo Alto, California, USA.
7. Francis, G., Makkar, H.P.S., and Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture 199: 197–227.
8. Grisham, M.B., Jefferson, M.M., Melton, D.F., and Thomas, E.L. 1984. Chlorination of endogenous amines by isolated neutrophils. Ammonia-dependent bactericidal, cytotoxic, and cytolytic activities of the chloramines. Journal of Biological Chemistry 259: 10404-10413.
9. Hauxtable, R.J. 1992. Physiological actions of taurine. Physiological Reviews 72: 101-163.
10. Kim, S.K., Matsunari, H., Takeuchi, T., Yokoyama, M., Furuita, H., Murata, Y., and Goto, T. 2008. Comparison of taurine biosynthesis ability between juveniles of Japanese flounder and common carp. Amino acids 35: 161–168.
11. McCarthy, K., Hischenhuber, C., and Joyce, N. 2000. Determination of total taurine in pet foods by liquid chromatography of the dansyl derivative: collaborative study. Journal of AOAC International 83: 784-788.
12. McCord, J.M., and Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). Journal of Biological Chemistry, 244: 6049-6055.
13. Nakamura, T., Ogasawara, M., Koyama, I., Nemoto, M., and Yoshida, T. 1993. The protective effect of taurine on the biomembrane against damage produced by oxygen radicals. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 16: 970–972.
14. Quartararo, N., Allan, G.L., and Bell, J.D. 1998. Replacement of fishmeal in diets for Australian snapper, *Pagrus auratus.* Aquaculture, 166: 279–295.
15. Rosemberg, D.B., da Rocha, R.F., Rico, E.P., Zanotto-Filho, A.L.F.E.U., Dias, R.D., Bogo, M.R., and Souza, D.O. 2010. Taurine prevents enhancement of acetylcholinesterase activity induced by acute ethanol exposure and decreases the level of markers of oxidative stress in zebrafish brain. Neuroscience, 171: 683-692.
16. Sakai, T., Watanabe, K., and Kawatsu, H. 1987. Occurrence of ditaurobilirubin, bilirubin conjugated with two moles of taurine, in the gallbladder bile of Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. Journal of Biochemistry, 102: 793-796.

17. Schuller-Levis, G., Mehta, P.D., Rudelli, R., and Sturman, J. 1990. Immunologic consequences of taurine deficiency in cats. Journal of Leukocyte Biolog, 47: 321-331.
18. Schuller-Levis, G.B., and Park, E. 2004. Taurine: new implications for an old amino acid. FEMS Microbiology Letters, 226: 195-202.
19. Siwicki, A.K., and Anderson, D.P. 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods. Wydawnictwo Instytutu Rybactwa Strodladowego, Olsztyn, Poland, 105–112.
20. Timbrell, J.A., Seabra, V., and Waterfield, C.J. 1995. The in vivo and in vitro protective properties of taurine. General Pharmacology: The Vascular System. Vol. 26 (1995). Pp: 453-462.
21. Weiss, D.G., Meyer, M.A., and Langford, G.M. 1990. Studying axoplasmic transport by video microscopy and using the squid giant axon as a model system. In *Squid as Experimental Animals* (Pp: 303-321). Springer US.
22. Yano, T. 1992. Assays of hemolytic complement activity. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Kaattari, S.L., Rowley, A.F. (Eds.), Techniques in Fish Immunology. SOS Publications, Fair Haven, NJ, Pp: 131–141.