

# 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾抗高温应激的影响\*

刘波<sup>1,2</sup>, 谢骏<sup>2</sup>, 戈贤平<sup>1,2</sup>, 何义进<sup>2</sup>,

徐跑<sup>1,2</sup>, 周群兰<sup>2</sup>, 潘良坤<sup>2</sup>, 陈汝丽<sup>2</sup>

(1. 南京农业大学(无锡)渔业学院, 江苏无锡 214081;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业部淡水鱼类遗传育种和  
养殖生物学重点开放实验室, 江苏无锡 214081)

**摘要:** 将罗氏沼虾随机分成5组, 每组3个平行, 每个平行约1 000尾, 第1组为对照组, 投喂基础日粮, 另外4组为试验组, 在基础日粮中分别添加 $w$ 为0.05%、0.10%、0.20%、0.40%大黄蒽醌提取物。饲养8周后, 对虾进行连续48 h 35 °C高温应激, 测定其生长、应激前后血淋巴葡萄糖、胆固醇、甘油三酯、溶菌酶、一氧化氮(NO)等的变化。结果表明: 与对照组相比, 添加 $w=0.10\%$ 的大黄蒽醌提取物显著提高了虾的增重率、降低了饵料系数,  $w=0.40\%$ 大黄蒽醌提取物显著增加了血淋巴溶菌酶含量。高温应激后, 与对照组相比, 添加 $w$ 为0.1%和0.20%大黄蒽醌提取物仍保持较高血淋巴溶菌酶、一氧化氮浓度。高温应激试验表明: 对照组死亡率达60%, 添加 $w$ 为0.10%和0.20%大黄蒽醌提取物小于30%。因此添加 $w$ 为0.10%和0.20%大黄蒽醌提取物提高了机体抗应激能力, 并对高温引起虾的死亡有一定的保护作用, 促进了虾的生长。

**关键词:** 罗氏沼虾; 大黄蒽醌提取物; 免疫; 抗高温应激; 生长

中图分类号: S94 文献标识码: A 文章编号: 0529-6579(2009)06-0109-06

## Effects of Anthraquinones Extracted from *Rheum officinale* Baill on Prevention of High Temperature of *Macrobrachium rosenbergii*

LIU Bo<sup>1,2</sup>, XIE Jun<sup>2</sup>, GE Xianping<sup>1,2</sup>, HE Yijing<sup>2</sup>,

XU Pao<sup>1,2</sup>, ZHOU Qunlan<sup>2</sup>, PAN Liangkun<sup>2</sup>, CHEN Ruli<sup>2</sup>

(1. Wuxi Fishery College, Nanjing Agriculture University, Wuxi 214081, China;

2. Key Laboratory of Genetic Breeding and Aquaculture Biology of Freshwater Fishes,  
Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center,  
Chinese Academy of Fishery Sciences, Jiangsu Wuxi 214081 China)

**Abstract:** In order to research the effects of anthraquinones extracte from *Rheum officinale* Baill on prevention of high temperature of *Macrobrachium rosenbergii*, *Macrobrachium rosenbergii* were divided into five groups randomly. The controls were fed with basal diet, the treated groups were fed with basal diet supplemented with 0.05%, 0.10%, 0.200%, 0.40% anthraquinones extracte for 8 weeks, respectively. After that, shrimp were stressed by high temperature at 35 °C for 48 hours continuously. Then the growth and the changes of nitrogen oxide, lysozyme, glucose, triglyceride and cholesterol and in haemolymph before and after the stress were investigated. The results showed that 0.10% dose group significantly increased weight gains and reduced feed conversion rate, and 0.40% dose group significantly increased haemolymph lysozymes contents before the stress. After the stress, 0.10% and 0.20% dose

\* 收稿日期: 2009-01-16

基金项目: 农业科技成果转化资金资助项目(2008GB23260402); International Foundation for Science 资助项目(IFS(A/4396)); 中央级公益性科研院所基本科研专项资金资助项目(2007JBFB11)

作者简介: 刘波(1978年生), 男, 博士生, 助理研究员; 通讯作者: 戈贤平; E-mail: gexp@ffrc.cn

groups were relatively higher in haemolymph lysozymes and nitrogen oxides contents than those of the control. Stress also caused mortality in all groups of which 0.10% ~ 0.20% dose groups were less than 30%, but the control was about 60%. It is concluded that ingestion of 0.10% ~ 0.20% dose of anthraquinones extract could help prevent negative effects of stress and improve shrimp growth.

**Key words:** *Macrobrachium rosenbergii*; anthraquinones extract from *Rheum officinale* Baill; immune ability; high temperature stress; growth

所谓应激 (stress) 主要指动物机体 (包括鱼、虾、贝等) 对外界或内部的各种异常刺激机体自我调节达到新的动态平衡所产生的一系列非特异性应答反应总和, 是机体在长期的进化过程中形成的一种扩大适应范围的生理反应。但是过度的应激会引起机体的免疫抑制<sup>[1]</sup>, 使机体生理功能紊乱, 易被病原菌感染引起发病, 甚至死亡<sup>[2]</sup>。因此, 如何防止应激和减轻应激的危害是研究的热点。

中草药具有天然、高效、毒副作用少、资源丰富等优点, 其富含的蛋白质、氨基酸、维生素、油脂、微量元素等以及一些未知的促生长活性物质等多种成分可促进水产动物机体代谢和蛋白质及酶的合成, 促进机体的生长发育<sup>[3]</sup>。同时中草药含有很多有效成分, 如: 有机酸类、生物碱、聚糖类、挥发油、蜡、甙、鞣质物质及一些未知免疫活性因子等, 这些活性因子能影响鱼虾非特异性免疫系统, 激活和诱导多种细胞因子来提高水产动物机体免疫力<sup>[4-7]</sup>。大黄蒽醌提取物包括大黄素、大黄酚、大黄酸等, 在我们实验室最近的研究中发现大黄蒽醌提取物能显著地提高鲤鱼 *Cyprinus carpio* 生长、起到抗应激的作用<sup>[8]</sup>。而饲料中添加大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾在高温应激下血淋巴的常规生化指标、免疫指标等研究则鲜有报道。鉴于此, 本试验在罗氏沼虾日粮中添加了不同浓度的大黄蒽醌提取物, 初步探讨其对罗氏沼虾生长、抗高温应激的影响, 为在大黄蒽醌提取物在虾病防治方面提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验罗氏沼虾、中草药及日粮

罗氏沼虾由中国水产科学院淡水渔业研究中心渔场提供。试验选择健康、规格、重量基本一致的罗氏沼虾, 初体质量为  $(1.07 \pm 0.11)$  g, 初体长为  $(4.12 \pm 0.13)$  cm。随机分为 5 组, 其中 I 组为对照组, II、III、IV、V 组为试验组, 每组设 3 个平行试验, 每平行组放养罗氏沼虾约 1 000 尾, 共 15 个水泥池 (规格为 8 m × 2 m × 1 m)。大黄蒽醌提取物由南京知新医药研发有限公司提供, 主要成

分为大黄素, 每毫升提取液中以大黄素计含量 1.40 mg。试验日粮为常规基础日粮分别添加  $w = 0$ 、0.05%、0.10%、0.20% 与 0.40% 大黄蒽醌提取物。

### 1.2 饲养试验

罗氏沼虾在中国水产科学研究院淡水渔业研究中心实验基地温室棚水泥池驯化 2 周后投喂试验日粮, 以虾体质量的 5.0% ~ 10.0% 投喂。每天投喂 3 次, 6:00 - 6:30、12:00 - 12:30 及 18:00 - 18:30 各投喂 1 次, 长期测水温, 水源为地下水, 7 d 换水 1 次, 每次换水 1/3, 每天吸污 1 次, 日夜连续充气增氧, 75 d 后试验结束后, 采集血淋巴, 称量等。

### 1.3 应激试验

饲养试验结束后, 选取个体基本一致的虾立即投入 35 °C 水体中进行急性应激试验。对照组和各试验组共 5 组, 每个剂量组分 3 个平行组, 每个平行组均为 30 尾, 放于规格为 50 cm × 50 cm × 40 cm 的 15 个控温水族缸, 在高温 35 °C 下连续 48 h 应激。持续充氧, 保证足够的氧气供应, 减少人为干扰, 保持安静, 防止额外的应激。

### 1.4 血液和肝脏采集与测定指标

在应激 0 h (常温状态下), 6, 12, 24, 48 h 后每个平行组取 3 尾虾采血, 每组 9 尾虾, 将虾迅速捞起并立即用 1 mL 针筒在腹窦或围心腔采血淋巴, 采用改进 4 °C Alsever 液抗凝血, 按照虾血淋巴: 抗凝剂 1:1 之比例制备抗凝血淋巴<sup>[9]</sup>, 血淋巴在 4 °C 冰箱静置 1 ~ 2 h 后, 在 4 °C、3 000 r/min、离心 10 min 后制备血清, 上清液移入 -20 °C 保存。

血糖、总胆固醇、甘油三酯在日立 7060 全自动生化分析仪上测定。血糖用葡萄糖氧化酶-过氧化物酶终点比色法测定, 试剂盒购于上海复旦张江生物医药股份有限公司。总胆固醇, 甘油三酯采用酶法, 试剂盒由上海名典生物工程公司提供。一氧化氮 (NO)、溶菌酶试剂盒均购自南京建成生物工程研究所<sup>[11]</sup>。

### 1.5 数据统计与分析

数据用 SPSS (Ver. 11.5) 软件 Duncan 多重比较检验各组间的差异, 用 *t* 检验检测应激前后的

变化,  $P < 0.05$  表示有差异显著性。所有的结果均以平均值  $\pm$  标准误 ( $\bar{X} \pm SE$ ) 来表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾生长的影响

由表1可知, 与对照组相比,  $w = 0.10\%$  试验组显著 ( $P < 0.05$ ) 提高了罗氏沼虾的增质量率  $14.94\%$ , 显著 ( $P < 0.05$ ) 降低饵料系数  $13.92\%$ 。 $w = 0.20\%$  试验组显著 ( $P < 0.05$ ) 降低饵料系数  $10.76\%$ , 其他组差异不显著。从生产上来说, 大黄蒽醌提取物在罗氏沼虾添加量在  $0.1\% \sim 0.2\%$  比较适合。

### 2.2 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾常规血液指标的影响

由表2可知, 应激前, 与对照组相比, 各试验组对血糖水平没有显著影响。应激后, 与对照组相比,  $w$  为  $0.1\%$ 、 $0.20\%$  试验组在应激后  $12\text{ h}$ ,  $w = 0.05\%$  试验组在应激后  $24\text{ h}$  显著 ( $P < 0.05$ ) 降低了血糖水平。应激前后相比, 对照组在应激后

$24\text{ h}$ ,  $w = 0.05\%$  试验组在应激后  $48\text{ h}$  显著 ( $P < 0.05$ ) 增加了血糖水平。

由表3可知, 应激前, 与对照组相比, 各试验组血淋巴胆固醇无显著差异; 应激后, 与对照组相比,  $w = 0.05\%$  试验组在应激后  $6\text{ h}$ ,  $w$  为  $0.05\%$ 、 $0.10\%$ 、 $0.40\%$  试验组在应激后  $24\text{ h}$  均显著提高了胆固醇的含量 ( $P < 0.05$ ) 外, 其他无显著影响。应激前后相比,  $w = 0.20\%$  试验组在应激后  $12\text{ h}$  显著降低了胆固醇的含量 ( $P < 0.05$ ),  $w$  为  $0.05\%$ 、 $0.02\%$  实验组在应激后  $48\text{ h}$ ,  $w = 0.10\%$  实验组在应激后  $24\text{ h}$  显著提高了胆固醇的含量 ( $P < 0.05$ ), 其他无显著影响。

由表4可知, 应激前, 与对照组相比, 各试验组血淋巴甘油三脂无显著影响; 应激后, 与对照组相比, 除  $w = 0.40\%$  实验组在应激后  $6 \sim 24\text{ h}$  显著 ( $P < 0.05$ ) 提高了甘油三脂的含量外, 其他无显著影响。应激前后相比, 仅有  $w = 0.10\%$  实验组在应激后  $24\text{ h}$  显著 ( $P < 0.05$ ) 提高了甘油三脂的含量。

表1 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾生长的影响<sup>1)</sup>

Table 1 Effects of Anthraquinones extracte from *Rheum officinale* Baill on the growth of *Macrobrachium rosenbergii*

$w$ (大黄蒽醌提取物) / %	初均质量/g	末均质量/g	增质量率/%	饵料系数
0	$1.09 \pm 0.01$	$10.83 \pm 0.23^a$	$894.14 \pm 12.95^a$	$1.58 \pm 0.03^a$
0.05	$1.07 \pm 0.02$	$11.67 \pm 0.42^{ab}$	$986.53 \pm 50.45^{ab}$	$1.50 \pm 0.04^{ab}$
0.10	$1.09 \pm 0.02$	$12.26 \pm 0.43^b$	$1027.56 \pm 24.66^b$	$1.36 \pm 0.05^b$
0.20	$1.08 \pm 0.03$	$11.63 \pm 0.24^{ab}$	$978.68 \pm 25.28^{ab}$	$1.41 \pm 0.02^b$
0.40	$1.10 \pm 0.02$	$11.45 \pm 0.47^{ab}$	$943.12 \pm 44.64^b$	$1.48 \pm 0.07^{ab}$

1) 表中值为平均值  $\pm$  标准误 ( $n = 3$ ); 同一列数据中有不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ );

$$\text{增质量率}/\% = \frac{\text{试验末虾体均质量} - \text{试验初虾体均质量}}{\text{试验初虾体均质量}} \times 100\%; \quad \text{饵料效率}/\% = \frac{\text{虾体增质量}}{\text{饲料消耗量}} \times 100\%$$

表2 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾血淋巴葡萄糖的影响<sup>1)</sup>

Table 2 Effects of anthraquinones extracte from *Rheum officinale* Baill on glucose level of haemolymph in *Macrobrachium rosenbergii*

$w$ (大黄蒽醌提取物) / %	$c$ (葡萄糖) / ( $\text{mmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ )				
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h
0	$19.93 \pm 0.74^{ab}$	$18.44 \pm 0.81$	$19.1 \pm 0.46^a$	$28.29 \pm 2.29^{a*}$	/
0.05	$18.99 \pm 0.63^b$	$17.97 \pm 1.53$	$17.45 \pm 2.46^{ab}$	$19.57 \pm 3.66^b$	$30.46 \pm 0.96^{a*}$
0.10	$18.93 \pm 1.23^b$	$16.97 \pm 0.44$	$16.44 \pm 1.34^b$	$21.35 \pm 1.23^{ab}$	$24.17 \pm 2.87^{ab}$
0.20	$22.76 \pm 1.04^a$	$20.43 \pm 2.09$	$15.23 \pm 0.25^{b*}$	$22.88 \pm 2.12^{ab}$	$22.39 \pm 0.34^b$
0.40	$22.16 \pm 1.35^{ab}$	$20.43 \pm 1.55$	$20.11 \pm 1.62^a$	$24.79 \pm 0.26^{ab}$	$27.65 \pm 2.96^{ab}$

1) 表中值为平均值  $\pm$  标准误 ( $n = 9$ ); 同一列数据中有不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ); \* 表示同剂量组应激前后  $t$  检验结果,  $P < 0.05$  为差异显著; “/” 表示应激  $48\text{ h}$  下全部死亡

表 3 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾血液胆固醇的影响<sup>1)</sup>Table 3 Effects of anthraquinones extracte from *Rheum officinale* Baill on cholesterin concentration of haemolymph in *Macrobrachium rosenbergii*

<i>w</i> (大黄蒽醌提取物) / %	<i>c</i> (葡萄糖) / (mmol · mL <sup>-1</sup> )				
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h
0	0.5 ± 0.14	0.21 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.08	0.28 ± 0.03 <sup>b</sup>	/
0.05	0.51 ± 0.03	0.73 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.37 ± 0.30	0.66 ± 0.15 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.20 <sup>a*</sup>
0.10	0.29 ± 0.03	0.4 ± 0.05 <sup>ab</sup>	0.18 ± 0.08	0.69 ± 0.06 <sup>a*</sup>	0.76 ± 0.21 <sup>ab</sup>
0.20	0.45 ± 0.04	0.4 ± 0.15 <sup>ab</sup>	0.27 ± 0.03 <sup>*</sup>	0.52 ± 0.08 <sup>ab</sup>	1.31 ± 0.27 <sup>a*</sup>
0.40	0.47 ± 0.08	0.5 ± 0.14 <sup>ab</sup>	0.65 ± 0.15	0.79 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.39 ± 0.04 <sup>b</sup>

1) 表中值为平均值 ± 标准误 ( $n=9$ ); 同一列数据中有不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ); \* 表示同剂量组应激前后  $t$  检验结果,  $P<0.05$  为差异显著; “/” 表示应激 48 h 下全部死亡

表 4 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾血液甘油三脂的影响<sup>1)</sup>Table 4 Effects of anthraquinones extracte from *Rheum officinale* Baill on triglyceride content of haemolymph in *Macrobrachium rosenbergii*

<i>w</i> (醌提取物) / %	<i>c</i> (甘油三脂) / (mmol · mL <sup>-1</sup> )				
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h
0	0.72 ± 0.19 <sup>ab</sup>	0.26 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.37 ± 0.15 <sup>b</sup>	0.66 ± 0.23 <sup>b</sup>	/
0.05	0.53 ± 0.27 <sup>b</sup>	0.71 ± 0.09 <sup>ab</sup>	0.49 ± 0.28 <sup>b</sup>	1.33 ± 0.29 <sup>ab</sup>	1.34 ± 0.31
0.10	0.55 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.63 ± 0.19 <sup>ab</sup>	0.25 ± 0.11 <sup>b</sup>	0.85 ± 0.09 <sup>b*</sup>	1.00 ± 0.24
0.20	0.69 ± 0.29 <sup>ab</sup>	0.75 ± 0.15 <sup>ab</sup>	0.4 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.17 ± 0.42 <sup>ab</sup>	1.76 ± 0.53
0.40	1.52 ± 0.39 <sup>a</sup>	1.19 ± 0.50 <sup>a</sup>	1.15 ± 0.15 <sup>a</sup>	2.42 ± 0.71 <sup>a</sup>	1.43 ± 0.74

1) 表中值为平均值 ± 标准误 ( $n=9$ ); 同一列数据中有不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ); \* 表示同剂量组应激前后  $t$  检验结果,  $P<0.05$  为差异显著; “/” 表示应激 48 h 下全部死亡

### 2.3 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾血液免疫相关指标的影响

由表 5 可知, 应激前, 与对照组相比, 各实验组血淋巴 NO 含量没有显著影响 ( $P>0.05$ ); 在应激后, 与对照组相比,  $w=0.1\%$ 、 $0.2\%$ 、 $0.4\%$  试验组在应激后的 6 h,  $w=0.2\%$  试验组在应激后的 12 h 显著提高了血淋巴 NO 的含量 ( $P<0.05$ ), 其他各组无显著影响。应激前后相比, 无论对照组还是各实验组 6~48 h 均显著降低了血淋巴 NO 的含量 ( $P<0.05$ )。

由表 6 可知, 应激前, 与对照组相比,  $w=0.1\%$ 、 $0.4\%$  试验组显著增加了血浆溶菌酶的含量 ( $P<0.05$ ); 在应激后, 与对照组相比, 仅有  $w=0.4\%$  试验组在应激后的 12 h 显著提高了血淋巴溶菌酶的含量 ( $P<0.05$ ), 其他各组无显著影响。应激前后相比, 对照组与各试验组在应激后 6 h,  $w$  为  $0.20\%$ 、 $0.4\%$  试验组在应激后 12 h 均显著提高了血淋巴溶菌酶的含量 ( $P<0.05$ ), 其他无显著影响。

表 5 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾血淋巴 NO 的影响<sup>1)</sup>Table 5 Effects of anthraquinones extracted from *Rheum officinale* Baill on NO of haemolymph in *Macrobrachium rosenbergii*

<i>w</i> (蒽醌提取物) / %	<i>c</i> (NO) / ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )				
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h
0	12.52 ± 0.87	7.52 ± 1.09 <sup>b*</sup>	6.57 ± 0.59 <sup>b*</sup>	5.47 ± 0.96 <sup>*</sup>	/
0.05	12.72 ± 0.46	8.89 ± 0.55 <sup>ab*</sup>	7.64 ± 0.63 <sup>ab*</sup>	5.90 ± 0.28 <sup>*</sup>	3.97 ± 0.04 <sup>*</sup>
0.1	13.54 ± 0.73	10.46 ± 0.41 <sup>a*</sup>	7.92 ± 0.83 <sup>ab*</sup>	6.58 ± 0.91 <sup>*</sup>	4.59 ± 0.82 <sup>*</sup>
0.2	13.07 ± 0.79	9.81 ± 0.46 <sup>a*</sup>	8.96 ± 0.58 <sup>a*</sup>	6.94 ± 0.57 <sup>*</sup>	4.80 ± 0.70 <sup>*</sup>
0.4	14.25 ± 0.91	9.25 ± 0.86 <sup>a*</sup>	8.59 ± 0.61 <sup>ab*</sup>	7.01 ± 0.60 <sup>*</sup>	4.25 ± 0.71 <sup>*</sup>

1) 表中值为平均值 ± 标准误 ( $n=9$ ); 同一列数据中有不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ); \* 表示同剂量组应激前后  $t$  检验结果,  $P<0.05$  为差异显著; “/” 表示应激 48h 下全部死亡

表6 大黄蕙醌提取物对罗氏沼虾血液溶菌酶的影响<sup>1)</sup>Table 6 Effects of anthraquinones extracted from *Rheum officinale* Baill on lysozyme activity of haemolymph in *Macrobrachium rosenbergii*

$w$ (蕙醌提取物) /%	$\rho$ (溶菌酶) / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )				
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h
0	1.87 ± 0.30 <sup>b</sup>	6.73 ± 0.45 <sup>*</sup>	2.76 ± 0.83 <sup>b</sup>	4.46 ± 0.61	/
0.05	3.05 ± 0.10 <sup>ab</sup>	7.11 ± 1.09 <sup>*</sup>	2.94 ± 1.10 <sup>b</sup>	4.17 ± 0.55	3.44 ± 0.40 <sup>ab</sup>
0.1	3.55 ± 0.52 <sup>a</sup>	8.59 ± 1.30 <sup>*</sup>	2.05 ± 0.91 <sup>b</sup>	5.40 ± 0.65	2.41 ± 0.60 <sup>b</sup>
0.2	3.11 ± 0.26 <sup>ab</sup>	9.60 ± 0.10 <sup>*</sup>	3.86 ± 0.02 <sup>ab*</sup>	4.62 ± 0.84	3.83 ± 0.66 <sup>ab</sup>
0.4	3.42 ± 0.63 <sup>a</sup>	8.84 ± 1.21 <sup>*</sup>	5.40 ± 0.00 <sup>a*</sup>	4.19 ± 0.22	4.54 ± 0.41 <sup>a</sup>

1) 表中值为平均值 ± 标准误 ( $n = 9$ ); 同一列数据中有不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ); \* 表示同剂量组应激前后  $t$  检验结果,  $P < 0.05$  为差异显著; “/” 表示应激 48 h 下全部死亡

#### 2.4 大黄蕙醌提取物对罗氏沼虾在高温应激的保护效果

由图1可知: 35 °C 高温急性应激 0~6 h 后, 各组死亡率相差不大, 趋于零; 但是应激后 6~48 h, 各组的死亡率发生较大的变化, 其中应激 48 h 后, 对照组死亡率达 60%, 添加中草药组最大为 30%。

### 3 讨论

在水产养殖中, 常常面临如温度、养殖密度、水体理化因子、鱼体运输、储存等各种应激, 从而导致体内血液葡萄糖、胆固醇、甘油三酯等常规生化指标<sup>[10-11]</sup>, 及血液 NO、溶菌酶等免疫相关指标的变化<sup>[2-13]</sup>。大黄蕙醌提取物所含大黄素、大黄酚、大黄酸等具有抑菌、抗氧化及清除氧自由基的作用, 能增加动物的免疫功能<sup>[14]</sup>, 而间接地提高机体抗应激的能力, 促进鱼体的生长<sup>[8]</sup>。周显青等<sup>[15]</sup>在中华鳖日粮中添加中草药黄芪, 结果表明了黄芪在酸应激下仍能增加中华鳖血液溶菌酶。Xie 等<sup>[8]</sup>在建鲤日粮中添加不同浓度的大黄蕙醌提取物, 结果表明大黄蕙醌提取物在高密度应激下也能对建鲤血液溶菌酶, 血糖的增加有一定缓解作用。本试验也表明应激前各组血淋巴葡萄糖、总胆固醇、甘油三脂及 NO 浓度等没有明显的差异, 仅有  $w = 0.4\%$  大黄蕙醌提取物显著提高了血淋巴溶菌酶的含量。但是高温应激后, 血淋巴葡萄糖、总胆固醇、甘油三脂等有不同程度的升高, 血淋巴溶菌酶含量呈现先增加后降低, 而血淋巴 NO 有不同程度的降低趋势。与对照组相比, 添加  $w$  为 0.10%、0.20% 大黄蕙醌提取物在应激后 12 h 能保持相对降低的血淋巴葡萄糖, 这说明大黄蕙醌提取物对应激引起的血糖的增加也有一定的缓解作用。同时添加  $w$  为 0.05%~0.40% 大黄蕙醌提取物在应激后仍能保持相对较高的血淋巴总胆固醇、甘油三脂、NO、溶菌酶等含量, 这说明添加大黄

蕙醌提取物对应激后 NO、溶菌酶的降低有一定的减缓作用。35 °C 高温应激结果表明, 对照组死亡率达 60%, 添加大黄蕙醌提取物最大为 30% 左右。联系应激前后血淋巴血糖、NO、溶菌酶及死亡率等指标来看, 说明饲料中添加大黄蕙醌提取物对罗氏沼虾抗高温应激有一定的保护作用。同时饲料添加  $w = 0.10\%$  大黄蕙醌提取物还提高了虾增质量率, 血液溶菌酶活性, 降低了饵料系数, 这与 Xie 等<sup>[8]</sup>报道一些中草药促进机体生长是一致的, 但是过量的添加反而不利于虾的生长, 这可能是由于过量中草药可能引起肠道菌群失调<sup>[16]</sup>, 或者影响虾的适口性, 从而对虾的生长不利, 有关这方面的研究尚待进一步探讨。值得一提的是应激后的 6~48 h 之间血淋巴葡萄糖、胆固醇和甘油三脂含量的变化, 可以发现高温应激后代代谢增加, 血淋巴胆固醇和甘油三脂含量也逐渐增高, 其相应的产生了更多的血淋巴葡萄糖, 三者之间存在一定相关性。联系血淋巴相关免疫指标来看, 血淋巴溶菌酶含量在应激后 6~48 h 呈现先增加后降低, 并趋于平缓的, 并在应激后 6 h 有最大值, 这可能是短时间内高温急性应激能诱发淋巴溶菌酶量等合成与释放, 再加上组织损伤和细胞破裂, 使细胞内容物进入血淋巴液, 共同导致血淋巴中淋巴溶菌酶含量暂时显著高于对照, 免疫机能暂时增强, 从而消除应激带来的危害, 这需要进一步的研究。随着应激时间的延长, 可能对虾体造成慢性应激, 虾体适应了这种代谢, 机体慢慢适应了环境, 为了维持生理上的平衡, 一些常规指标含量又会上升, 这从血淋巴葡萄糖、胆固醇和甘油三脂含量在应激 48 h 含量相对比较高等方面得到验证。如果应激强度超过了虾体正常的耐受范围, 机体不能通过自身的调节来抵抗这种危害, 从而影响机体的生理功能、使机体处于一种亚健康状态, 这可能对健康状况不利<sup>[2]</sup>。本试验也发现对照组在应激 48 h 虾全部死亡, 说明

35 °C 高温应激 48 h 可能已是虾存活的极限, 各试验组在应激后 48 h 都达到了最大值, 大大超过了虾体能忍受的值, 故虾都死亡了, 这需要进一步的研究。总之, 添加  $w$  为 0.10% ~ 0.20% 大黄蓼醌提取物提高了罗氏沼虾机体抗高温应激能力, 并对虾体有一定的保护作用, 促进了罗氏沼虾的生长。

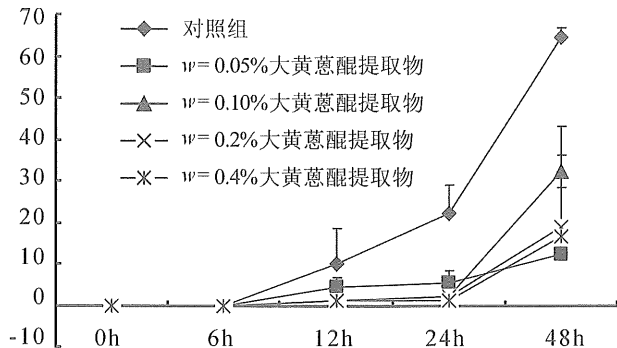


图 1 在高温应激后各组罗氏沼虾的累积死亡率  
Fig. 1 The cumulation death rate of *Macrobrachium rosenbergii* each group after high temperature stress  
(虾的死亡率不包括采样过程中杀掉的虾;

$$\text{死亡率}/\% = \frac{\text{死亡虾数}}{\text{受感染虾数}} \times 100\%$$

#### 参考文献:

- ANDERSON D P. Immunostimulants, adjuvants and vaccine carriers in fish; application to aquaculture [J]. Ann. Rev. Fish. Dis, 1992, 2:281 - 307.
- ROTLANT J, PAVLIDIS M, KENTOURI M, et al. Non-specific immune responses in the red porgy *Pagrus pagrus* crowding stress [J]. Aquaculture, 1997, 156:279 - 290.
- 邱小琮, 周洪琪, 刘小刚. 中草药添加剂对异育银鲫肌肉生化成分的影响 [J]. 上海水产大学学报, 2003, 12 (1):25 - 28.  
QIU Xiaozong, ZHOU Hongqi, LIU Xiaogang. The effects of dietary Chinese herb additives on biochemical compositions in muscle of allogynogenetic crucian carp [J]. J. Shanghai Fisheries university, 2003, 12 (1):25 - 28.
- 罗日祥. 中药制剂对中国对虾免疫活性物的诱导作用 [J]. 海洋与湖沼, 1997, 28(6):573 - 578.  
LUO Rixiang. Induction of immunity substance in *Penaeus Chinensis* by Chinese herbal medicine [J]. Oceanol. Limnol. Sin. 1997, 28:573 - 577.
- 陈孝煊, 吴志新, 张厚梅. 大黄与黄连对二种淡水虾血细胞吞噬活性的影响 [J]. 水生生物学报, 2002, 26 (2):201 - 204.  
CHEN Xiaoxuan, WU Zhixin, ZHANG Houmei. Effect of *Rheum officinale* and *coptis chinensis* on the phagocytic activity in the hemocytes of crayfish, *procambarus clarkii* and *cherax quadricarinatus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2002, 26(2):201 - 204.
- IMMANUE G, VINCYBAI V C, SIVARAM V, et al. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles [J]. Aquaculture, 2004, 236(1-4): 53 - 65.
- SIVARAM MM, BABU G, IMMANUE L, et al. Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tawina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections [J]. Aquaculture, 2004, 237(1-4): 9 - 20.
- XIE J, LIU B, ZHOU Q L, SU Y T, et al. Effects of anthraquinones extract from *rhubarb Rheum officinale* Baill on the crowding stress response and growth of common carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J]. Aquaculture, 2008, 281: 5 - 11.
- RODRIGUEZ J, BOULO V, MIALHE E, et al. Characterization of shrimp haemocytes and plasma components by monoclonal anti-bodies [J]. Journal of Cell Science, 1995, 108:1043 - 1050.
- 常玉梅, 曹鼎臣, 孙效文, 梁利群. 低温胁迫对鲤鱼血清生化指标的影响 [J]. 水产学杂志, 2006, 19(2):71 - 75.  
CHANG Yumei, CAO Dingchen, SUN Xiaowen, et al. Effects of cooling temperature stress on hematology and serum chemistry values of *Cyprinus carpio* [J]. Journal of Fisheries of China 2006; 30(5):701 - 706.
- HALL M R, van HAM E H. The effects of different types of stress on blood glucose in the giant black tiger prawn. *Penaeus monodon* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1998, 29:290 - 299.
- YIN Z, LAM T J, SIN Y M. The effects of crowding stress on the non-specific immune response in fancy carp (*Cyprinus carpio* L) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 1995, 5(7):519 - 529.
- JENEY G, GALEOTTI M, VOLPATTI D, et al. Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan [J]. Aquaculture, 1997, 154(1):1 - 15.
- 王文俊, 吴咸中, 姚智, 等. 大黄素、丹参素对单核细胞分泌炎症性细胞因子的调节 [J]. 中国免疫学杂志, 1995, 11(6):370 - 372.  
WANG Wenjun, WU Jianzhong, YAO Zhi, et al. The influence of emodin and Danshengsu on monocyte's secretion of inflammatory cytokines [J]. Chin J Immun, 1995, 11(6):370 - 372.
- 周显青, 牛翠娟, 孙儒泳. 黄芪对中华鳖免疫和抗酸应激能力的影响 [J]. 水生生物学报, 2003, 27(1):110 - 112.  
ZHOU Xianqing, NIU Cuijuan, SUN Ruyong. Effects of *Radix astragali* on immunity and anti-stress ability in soft-shelled turtles (*Trinix sinensis*) [J]. J Acta Hydrobiologica Sinica, 2003, 27(1):110 - 112.
- 刘红柏, 张颖, 杨雨辉, 等. 5 种中草药作为饲料添加剂对鲤肠内细菌及生长的影响 [J]. 大连水产学院学报, 2004, 19(1):16 - 20.  
LIU Hongbo, ZHANG Ying, UANG Yuhui, et al. Effects of five Chinese herb medicines as additive in feed on the growth and intestinal microflora in common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. J Dalian Fish Univ, 2004, 19 (1):16 - 20.