

黄芩苷增强中国对虾组织免疫和解毒代谢能力

付媛媛^{1,2} 李健^{1*} 陈萍¹ 刘磊¹

(¹农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 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, 201306)

摘要 用含不同浓度梯度(0、50、100、150 mg/kg)黄芩苷的饲料连续投喂健康的中国对虾 *Fenneropenaeus chinensis*, 于给药第 1、3、5、7、9、11 天采集实验对虾的血淋巴、肝胰腺、肌肉组织, 测定不同组织的酸性磷酸酶(ACP)、过氧化氢酶(CAT)、一氧化氮合酶(INOS)、溶菌酶(LSZ)、超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化, 研究黄芩苷对中国对虾非特异性免疫酶活指标和解毒代谢能力的影响。实验结果表明, 中、高浓度处理组血淋巴、肝胰腺、肌肉组织的 ACP、INOS、SOD 在第 3 天后呈上升趋势, 分别达到峰值后趋于稳定状态, 与同期对照组相比差异显著($P < 0.05$); 低浓度黄芩苷处理组各种酶活性与同期对照组相比差异不显著($P > 0.05$), 而低、中、高浓度处理组血淋巴 LSZ 酶活性与同期对照组相比差异极显著($P < 0.01$)。各种酶活亦存在组织差异性, 其中 ACP、CAT 在肝胰腺中活性最高, 肌肉和血淋巴次之; 而 INOS、LSZ、SOD 活性, 血淋巴中最高, 肌肉和肝胰腺次之。同时攻毒试验表明, 黄芩苷能有效地降低试验组中国对虾的死亡率, 提高免疫保护率。其中, 中浓度处理组的保护效果最佳。

关键词 中国对虾 黄芩苷 酸性磷酸酶 过氧化氢酶 一氧化氮合酶
溶菌酶 超氧化物歧化酶 鳃弧菌

中图分类号 Q55 文献识别码 A 文章编号 1000-7075(2011)04-0102-10

Influence of baicalin on immune enzymes and detoxification metabolism of shrimp *Fenneropenaeus chinensis*

FU Yuan-yuan^{1,2} LI Jian^{1*} CHEN Ping¹ LIU Lei¹

(¹Key Laboratory of Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(²College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, 201306)

ABSTRACT The aim of the study was to test the influence of baicalin on immune enzymes and detoxification metabolism of shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. Four treatments were designed with different concentrations of baicalin (0, 50, 100, 150 mg/kg) mixed with the raw diet, and the diets were orally fed to healthy *F. chinensis*. The activities of acid phosphatase (ACP), catalase (CAT), induced nitric oxide synthase (INOS), lysozyme (LSZ), superoxide

国家高技术研究发展计划(2006AA10A406)、公益性农业行业科研专项(200803012)和科技部农业科技成果转化资金项目(2010GB23260589)共同资助

* 通讯作者。E-mail: lijian@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85830183

收稿日期: 2010-09-10; 接受日期: 2010-10-12

作者简介: 付媛媛(1983-), 女, 硕士, 主要从事水生生物病理学与免疫学研究。E-mail: fuyuan0101@163.com, Tel: (0532)85836690

dismutase (SOD) in haemolymph, hepatopancreas, and muscle were assayed on days 1, 3, 5, 7, 9 and 11. The data indicated that activities of ACP, INOS, SOD in the 100mg/kg and 150 mg/kg treatments increased significantly ($P < 0.05$) compared to the control level after feeding, and achieved the highest level in three days. All activities in the 50mg/kg treatment were not significant higher than those in the control ($P > 0.05$), while increase of activities of LSZ in heamolymph were highly significant ($P < 0.01$) in the 50, 100 and 150mg/kg treatments compared to the control level at the same period. The activities of (ACP and CAT changed most greatly in hepatopancreas, followed by muscle and hemolymph. The activities of INOS, LSZ, SOD changed most greatly in hemolymph, followed by muscle and hepatopancreas. The middle level treatment and high level treatment reduced significantly ($P < 0.05$) below the control level. Results of the infected test showed that the artificial infection with *V. anguillarum* caused mortality in all groups, but the mortality of the control group was the highest and the mortality of the medium dose was the lowest. The baicalin elevated the protective rate of *F. chinensis* infected with *V. anguillarum*. The results showed that baicalin could regulate the immune system of *F. chinensis* significantly, enhance non-specific immune function and disease resistance, and depress the susceptibility of *F. chinensis* effectively. All these results would provide a theoretical basis for the preparation of compound Chinese herbal medicine.

KEY WORDS *Fenneropenaeus chinensis* Baicalin ACP CAT INOS
LSZ SOD *Vibrio anguillarum*

中草药具有天然、高效、毒副作用少、资源丰富等优点,其含有丰富的调节水产动物免疫表达的有效成分,如有机酸类、生物碱、聚糖类、挥发油、蜡、苷、鞣质物质及一些未知免疫活性因子等,这些因子主要通过影响非特异性免疫系统,激活和诱导多种细胞因子等途径提高机体免疫力(Immanue *et al.* 2004; Sivaram *et al.* 2004)。1993 年对虾病毒性疾病(WSSV)暴发后,对虾养殖业出现苗种质量退化、抗病力差、虾病频发等现象(杨丛海 2002)。应用中草药免疫增强剂来提高对虾自身非特异性免疫力,增强对虾抗病力和提高对虾养殖成活率成为研究热点(张明等 2008; 江晓路等 1996; 王宜艳等 2002; Sritunyalucksana *et al.* 1999)。

研究表明,中草药能有效提高海水养殖动物的非特异性免疫力(孟晓林等 2007; 王秀华等 2004; 沈锦玉等 1996; 张耀武等 2008; 马爱敏等 2009)。王宜艳等(2005)以中草药复合免疫药物虾康素连续投喂中国对虾 7d,证实能显著提高血淋巴的酚氧化酶(PO)、超氧化物歧化酶活力。杜爱芳等(1997)用 4 种复合中草药制剂对中国对虾进行投喂,发现对虾血细胞吞噬活性相对细菌的杀伤活性均显著高于对照组,免疫保护率也有提高,而一些中草药单一使用就可以出现良好的效果,如枳实可以提高凡纳滨对虾体内超氧化物歧化酶(SOD)、溶菌酶(LSZ)活力以及血淋巴细胞的吞噬能力(郭永军等 2005)。黄芩苷(Baicalin)是从唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* (Georigi)中提取的一种黄酮类化合物,是黄芩的有效成分之一,具有抗菌、消炎等多种药理作用(张喜平等 2003; 文敏等 2008)。由于其低毒、低污染和不易产生耐药性等优点,已应用于多种水产动物的疾病防治(马爱敏等 2009; 刘红柏等 2004),但有关黄芩苷对中国对虾的抗病作用及其进入机体后生理生化指标变化的报道很少。因此,本研究通过给中国对虾口服不同剂量的黄芩苷制剂,测定其血淋巴、肝胰腺和肌肉组织中机体免疫及解毒代谢相关酶类活力在不同感染时间的变化规律,探讨了黄芩苷增强中国对虾免疫机能和解毒代谢能力的效果与影响途径。旨在为建立评价黄芩苷使用效果的生物学指标,确定黄芩苷用于中国对虾饲料中的适宜添加剂量提供数据支持和理论指导。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

所用健康中国对虾取自青岛胶州宝荣水产科技发展有限公司,体长 7.28 ± 0.46 cm,体重 3.5 ± 0.2 g,暂养驯化 5d,海水盐度 29,pH 为 7.2 ± 0.2 ,溶解氧维持在 6.0 mg/L 以上,连续充气,并投喂对虾配合饲料(购自青岛金海力水产科技有限公司)。

1.2 实验饲料

黄芩苷药粉购自青岛胶南市科奥植物制品有限公司,含量 $\geq 85\%$ 。各组的试验日粮为:基础日粮分别添加含有 0、50、100、150 mg/kg 4 个水平的黄芩苷药粉,饲料制成直径为 1.6 mm 饲料颗粒,70℃ 下烘干,4℃ 冷藏保存。基础日粮配方见表 1。

表 1 基础日粮
Table 1 The basic diet

组成 Ingredients	含量 Content (%)	组成 Ingredients	Content 含量 (%)
鱼粉 Fish meal	45	卵磷脂 Lecithin	1
鱼油 Fish oil	4	胆固醇 Cholesterol	0.5
面粉 Wheat middings	8	矿物质添加剂 Mineral additive(1)	1
大豆粕 Soybean meal	10	维生素添加剂 Vitamin additive(1)	0.5
花生粕 Peanut meal	25	合计 Total	100
菜籽粕 Rapeseed meal	5		

注:(1) 复合维生素、复合矿物质参照王兴强等(2005)

1.3 实验方法

选健康、大小均匀的中国对虾随机分成 4 个处理组,每组 120 尾,各设 3 个平行,每个平行 40 尾,饲养于 200 L 的聚乙烯桶,每天连续分别投喂不同浓度梯度(0、50、100、150 mg/kg)黄芩苷的饲料,日投饵 4 次(6:00、11:00、16:00、21:00)。实验期间水温为 24~26℃,盐度 29,pH 7.2 ± 0.2 ,溶解氧维持在 6.0 mg/L 以上,连续充气,每天换水约 2/3。

1.4 样品制备

在实验的第 1、3、5、7、9、11 天取样,每桶随机取 6 尾。用纱布吸干对虾头、胸、甲的表面海水,然后用 75% 酒精棉球擦拭虾体,取血淋巴、肌肉、肝胰腺。

1.4.1 血淋巴的制备

用 1 ml 一次性注射器从对虾的心脏、胸足基部和腹节等处抽取 0.5~1 ml 血淋巴,注入洁净无菌预冷的 1.5 ml 离心管中,5 000 r/min,4℃ 离心 10 min,析出血清,-20℃ 保存备用。

1.4.2 肌肉、肝胰腺匀浆的制备

分别迅速取中国对虾的肝胰腺、肌肉于灭菌的离心管中,放入-20℃ 冷冻保存。测定时取组织样称重,加入 10 倍的 0.1 mol/L 磷酸钾盐缓冲液(pH=7.4),低温匀浆、离心(4℃,5 000 r/min,10 min),分别取上清液用于酶活测定。

1.5 样品分析

组织匀浆粗提液中蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 比色法进行蛋白定量,参照 Bradford 等(1976)方法稍加改进后进行测定。牛血清蛋白(Bovine serum albumin,BSA,购于 AMRESCO 公司)作为标准蛋白。

酸性磷酸酶(ACP)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、一氧化氮合酶(INOS)活力测定使用南京建成生物工程研究所第一分所提供的试剂盒进行测定并计算酶活。

溶菌酶活性(LSZ)活性用 Hultmark 等(1980)改进方法进行。以溶壁微球菌冻干粉为底物,用 0.1mol/L (pH=7.4)的磷酸钾盐缓冲液配制成一定浓度的底物悬液($OD_{570}=0.3$),溶菌活性:(U/ml)=(A_0-A)/A。

1.6 攻毒试验

饲养试验同 1.3,实验虾饲养 15d 后,随机捞取中国对虾做攻毒试验,每个处理组分 3 个平行,每个平行随机取 20 尾虾,腹肌注射鳗弧菌。鳗弧菌来自中国水产科学研究院黄海水产研究所病害室,经过预试验确定鳗弧菌的攻毒浓度为 10^8 cell/ml,注射剂量为 50 μ l/尾,并放养在 200 L 的聚乙烯桶中,于 0、12、24、48、72、96 h 统计死亡率和免疫保护率。

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

$$\text{免疫保护率}(\%) = (\text{对照组死亡率} - \text{试验组死亡率}) \div \text{对照组死亡率} \times 100$$

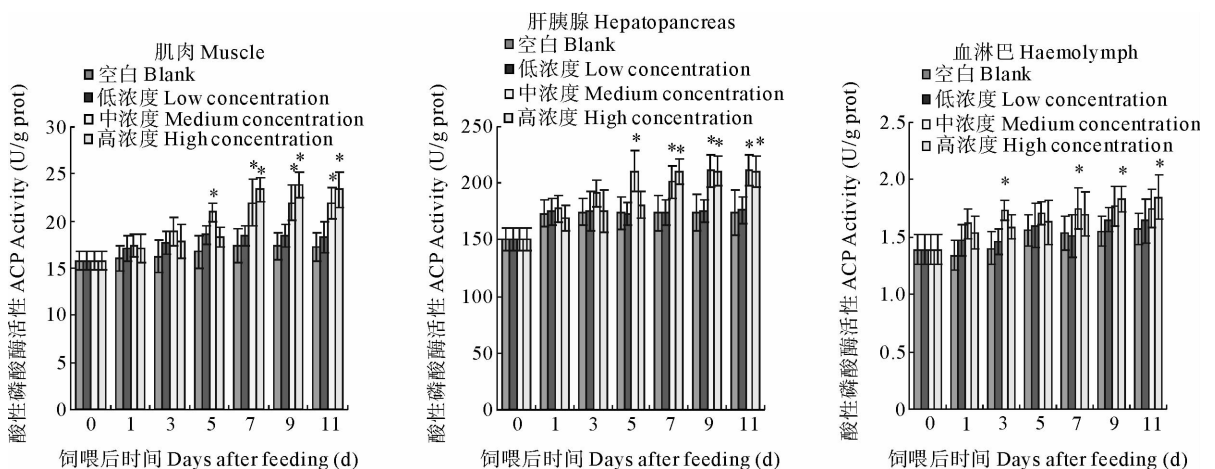
1.7 数据处理

所有的数据均为 5 个样品的平均值 \pm SD,结果用 SPSS 软件进行组间差异比较。 $P>0.05$ 表示差异不显著, $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 黄芩苷对中国对虾酸性磷酸酶(ACP)活性的影响

由图 1 可见,投喂含不同浓度黄芩苷的饲料后,中国对虾酸性磷酸酶(ACP)活性存在组织差异性,肝胰腺中最高,肌肉和血淋巴次之。中、高浓度组的肌肉 ACP 值于 7 d 达到最高并趋于稳定状态,且中、高浓度组相对于 0 d 显著升高($P<0.05$),同时中、高浓度组于 7 d 后比同期对照组显著升高($P<0.05$)。中、高浓度处理组肝胰腺分别于 5、7 d 达到最高值并比 0 d 显著升高($P<0.05$),同时比同期对照组亦显著提高($P<0.05$)。中浓度组血清 ACP 活性于 3 d 后呈升高趋势并处于稳定状态,比同期对照组略有提高,但是差异不显著($P>0.05$),高浓度组血清 ACP 活性含量持续升高,其中第 9、11 天比同期对照组差异显著($P<0.05$)。



注: * 表示与空白组差异显著($P<0.05$)

Note: The single superscript means the difference is significant($P<0.05$)

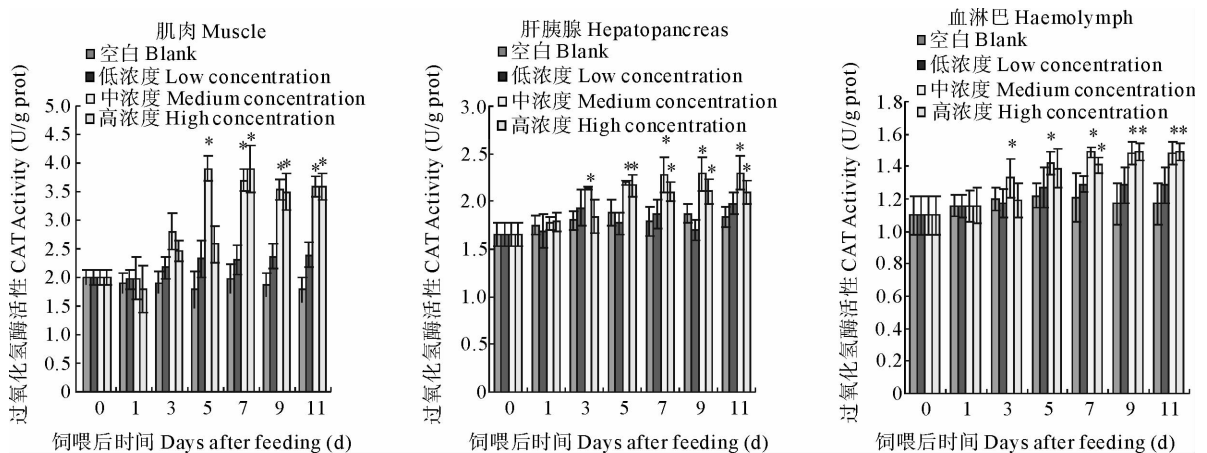
图 1 各实验组中国对虾肝胰腺、肌肉、血淋巴中 ACP 活性的变化

Fig. 1 Variation of ACP activities in muscle, hepatopancreas and haemolymph in different treatments of *F. chinensis*

2.2 黄芩苷对中国对虾过氧化氢酶(CAT)活性的影响

由图2可见,投喂含不同浓度黄芩苷饲料后,中国对虾过氧化氢酶(CAT)活性存在组织差异性,中、高浓度肌肉和肝胰腺CAT活性变化幅度最大,均在第3天后与同期对照组差异显著($P<0.05$)。

中、高浓度组的肌肉CAT值分别于第5、7天达到最高并趋于略下降的趋势,但是中、高浓度组肌肉CAT值第3天后相对于0d显著升高($P<0.05$),同时中、高浓度组于第3天后比同期对照组显著升高($P<0.05$),低浓度处理组第3天后比同期对照组略有升高但是差异不显著。中浓度组肝胰腺CAT值第3天后则呈升高趋势,均比同期对照组显著升高($P<0.05$),高浓度处理组肝胰腺于第9天达到最高,第11天略有下降,但是均比0d显著升高($P<0.05$),同时比同期对照组亦显著提高($P<0.05$)。低、中、高浓度组血清CAT值第3天后比同期对照组略有升高且差异不显著($P>0.05$),但中、高浓度组血清CAT值第5天后相对于0d显著升高($P<0.05$)。



注: * 表示与空白组差异显著($P<0.05$)

Note: The single superscript means the difference is significant($P<0.05$)

图2 各实验组中国对虾肝胰腺、肌肉、血淋巴中CAT活性的变化

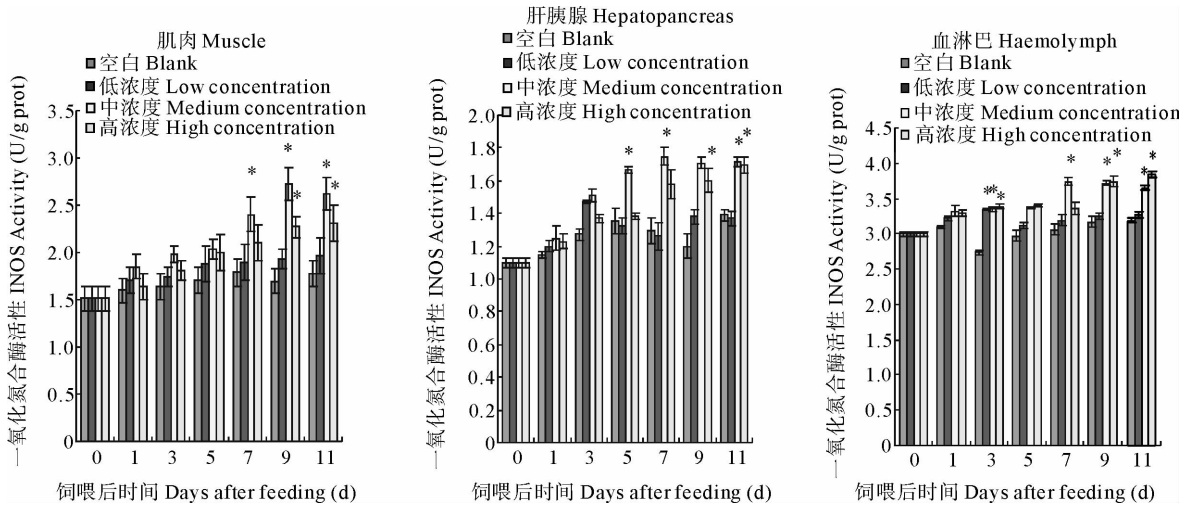
Fig. 2 Variation of CAT activities in muscle, hepatopancreas and haemolymph in different treatments of *F. chinensis*

2.3 黄芩苷对中国对虾超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

由图5可见,投喂含不同浓度黄芩苷的饲料后,中浓度处理组肌肉第3天后SOD活性均比同期对照组活性显著升高($P<0.05$),亦比同期其他浓度略有升高,而与0d相比,3个浓度组3d后均显著升高($P<0.05$)。中、高浓度处理组肝胰腺第3天后均与同期对照组活性显著升高($P<0.05$),而中浓度组与同期高浓度组相比略有升高。3个浓度处理组血淋巴SOD活性均比0d显著升高($P<0.05$),而中、高浓度组SOD值第7天后均比同期对照组显著升高($P<0.05$)。

2.4 黄芩苷对中国对虾一氧化氮合酶(INOS)活性的影响

由图3可见,投喂含不同浓度黄芩苷的饲料后,中国对虾中浓度处理组第3天后肝胰腺INOS活性均比同期对照组显著升高($P<0.05$),亦相对于0d显著升高($P<0.05$),高浓度组肝胰腺INOS呈缓慢上升趋势,第7、9、11天均比同期对照组显著升高($P<0.05$),相对于0d亦显著升高($P<0.05$),低浓度组第3天相对于0d亦显著升高($P<0.05$)。中、高浓度肌肉INOS活性第9、11天均比同期对照组显著升高($P<0.05$),相对于0d亦显著升高($P<0.05$)。与同期对照组相比,血淋巴INOS活性低浓度处理组于第3天,中浓度处理组于第3、7、9、11天,高浓度处理组于第9、11天均比同期对照组显著升高($P<0.05$)。



注: * 表示与空白组差异显著($P < 0.05$)

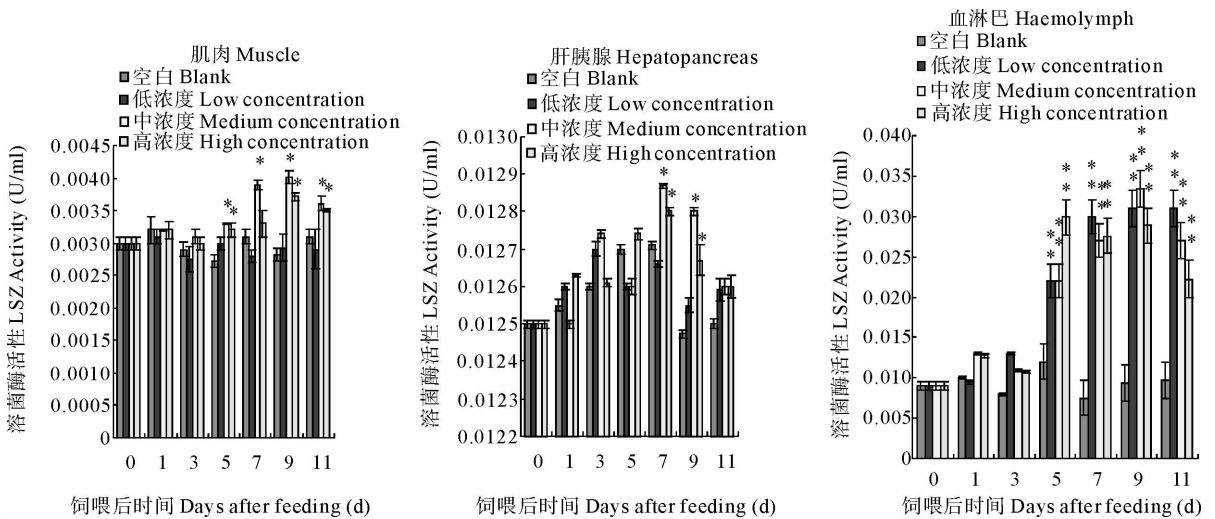
Note: The single superscript means the difference is significant($P < 0.05$)

图 3 各实验组中国对虾肝胰腺、肌肉、血淋巴中 INOS 活性的变化

Fig. 3 Variation of INOS activities in muscle, hepatopancreas and haemolymph in different treatments of *F. chinensis*

2.5 黄芩苷对中国对虾溶菌酶(LSZ)活性的影响

由图 4 可见,投喂含不同浓度黄芩苷的饲料后,中国对虾溶菌酶(LSZ)活性在血清组织中变化幅度最大,低、中、高处理组血淋巴第 5 天后 LSZ 活性均比同期对照组极显著升高($P < 0.01$)。中浓度组肌肉 LSZ 活性在第 7、9 天均比同期对照组显著升高($P < 0.05$),亦比同期其他组略有升高。中、高浓度组肝胰腺 LSZ 活性在第 7、9 天均比同期对照组显著升高($P < 0.05$),亦比 0d 显著升高($P < 0.05$)。其中,中浓度组第 9 天比高浓度组显著升高($P < 0.05$)。

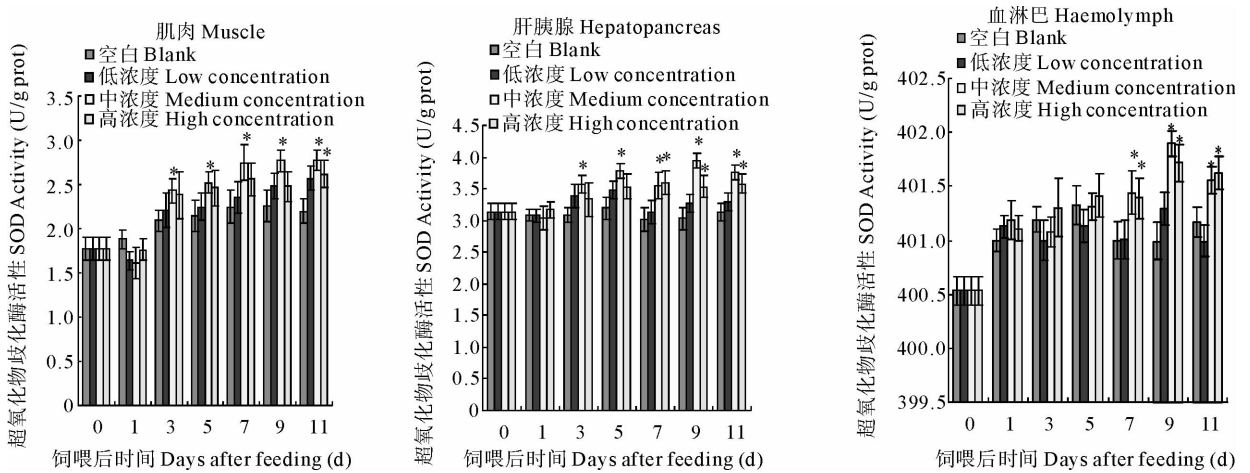


注: * 表示与空白组差异显著($P < 0.05$); ** 表示与空白组差异极显著($P < 0.01$)

Note: The double superscript mean the differences are highly significant, while the single superscript means the difference is significant

图 4 各实验组中国对虾肝胰腺、肌肉、血淋巴中 LSZ 活性的变化

Fig. 4 Variation of LSZ activities in muscle, hepatopancreas and haemolymph in different treatments of *F. chinensis*



注: * 表示与空白组差异显著 ($P < 0.05$)

Note: The single superscript means the difference is significant ($P < 0.05$)

图 5 各实验组中国对虾肝胰腺、肌肉、血淋巴中 SOD 活性的变化

Fig. 5 Variation of SOD activities in muscle, hepatopancreas and haemolymph in different treatments of *F. chinensis*

2.6 攻毒实验结果

感染鳃弧菌后中、高浓度处理组死亡率在 48、72 h 均比同期对照组显著降低 ($P < 0.05$), 低浓度处理组于 48 h 亦比对照组显著降低 ($P < 0.05$)。对照组中国对虾死亡率在 48 h 时达到 100%, 低浓度处理组在 96 h 达到 100%, 而中浓度组和高浓度组则在 96 h 之后才完全死亡。

低浓度组在 24、36、48、72 h 的免疫保护率较中、高浓度处理组差异显著 ($P < 0.05$), 随着感染时间的推延, 自 72 h 后, 黄芩苷对中国对虾的免疫保护效果呈相对下降趋势, 至 96 h 时低浓度处理组免疫保护率为 0。

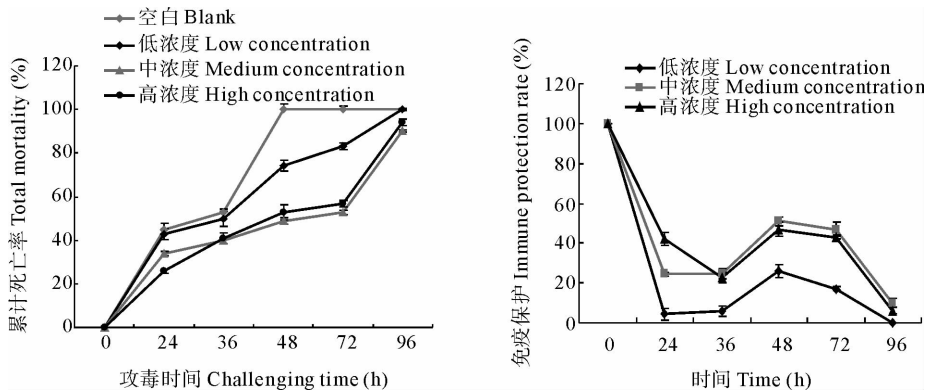


图 6 鳃弧菌攻毒后试验中国对虾的累计死亡率和免疫保护率

Fig. 6 Accumulative mortalities and rate of immune protection of *F. chinensis* after challenge with *Vibrio anguillarum*

3 讨论

3.1 黄芩苷对中国对虾免疫力的影响

甲壳动物属非特异性免疫, 主要以血细胞免疫反应为主, 由于甲壳动物为开放式循环系统, 在各种组织中

均能测出免疫酶活性,一氧化氮合酶、溶菌酶活性主要由血细胞分泌产生,其中一氧化氮合酶(INOS)是一种利用 NO 途径作为杀伤分子的杀菌机制。姜国建等(2004)研究发现,白斑综合征病毒在人工感染中国对虾初期能诱导其血细胞中 INOS 表达。因此 INOS 能够作为反映对虾健康状况的有效指标。最近 Yin 等(2004)的研究也发现,一些中草药制剂对 NO 的产生具有调节作用,从而对机体的非特异性免疫功能起调节作用。本试验添加黄芩苷后中国对虾中、高浓度处理组对肝胰腺、肌肉、血淋巴 INOS 活性均呈现促进作用,而低浓度处理组与空白对照差异不显著。这与张家松(2009)用金丝桃素投喂凡纳滨对虾后,肌肉、肝胰腺、血淋巴 INOS 酶活力得到大幅度提高的结果一致,说明黄芩苷有可能诱导机体产生 NO,从而增强虾的免疫力,但其作用机制还有待于深入研究。

溶菌酶(LSZ)是吞噬细胞杀菌的物质基础,在甲壳动物的免疫防御中起重要作用。其活力是反应动物非特异性免疫功能的重要生理指标之一。罗日祥等(1997)投喂中国对虾含中草药制剂的饲料,中国对虾体内溶菌酶活力升高,但是复合中草药哪一种单一成分对 LSZ 有影响尚未报道。郭美美等(2005)投喂 0.5%、1%、2% 3 个浓度含黄芩饲料,凡纳滨对虾血淋巴 LSZ 活性均有不同幅度的提高,1% 药饵组一直维持高活力。陈萍等(2009)研究发现,当弧菌进入三疣梭子蟹体内,触发了梭子蟹免疫系统并产生免疫反应,促进抗菌蛋白和溶菌蛋白的生物合成,从而提高了机体的溶菌酶活力。本实验研究发现,中国对虾在投喂黄芩苷后,试验组血淋巴溶菌酶活性以及肝胰腺溶菌酶含量均比同期对照组提高,如血淋巴溶菌酶活性 3 个处理组第 5 天后活性值均比同期对照组极显著升高($P < 0.01$),低、中、高浓度组血淋巴 LSZ 第 9 天达到峰值均比对照组分别显著增高 329%、355%、306%,肝胰腺溶菌酶活性中、高浓度组第 9、11 天组均比同期对照组显著提高。黄芩苷对 LPS 诱导的炎症具有一定的阻抑作用(杨巧芳等 2009),刺激了中国对虾的免疫系统,诱导血凝素的活力,溶菌能力升高,提高了机体的非特异性免疫能力。

3.2 黄芩苷对中国对虾解毒代谢酶的影响

酸性磷酸酶、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶为肝胰腺分泌的解毒代谢酶。其中酸性磷酸酶(ACP)是一种磷酸单酯酶,是可以催化各种含磷化合物水解的酶类,不仅能催化磷酸单酯水解,还直接参与磷酸基团的转移,是动物体内重要的解毒体系(Lackie *et al.* 1980)。何南海等(2004)把 ACP 作为检测甲壳动物免疫功能的指标酶。张明等(2008)研究发现,注射免疫低聚糖可显著增强中国对虾酸性磷酸酶血清免疫指标。王秀华等(2004)投喂含有质量分数 2.5×10^{-3} 肽聚糖的饲料后,南美白对虾血清中酸性磷酸酶活力显著升高,而饲料中肽聚糖制剂含量过高对对虾非特异免疫力的作用效果并不佳。这有可能是不同的外源物质作用于同一养殖种类或同物质作用不同种类,其对机体的 ACP 活力影响不同(刘岩等 2002)。本研究发现,投喂含不同浓度黄芩苷的饲料后,中、高浓度组肝胰腺和肌肉酸性磷酸酶(ACP)活性大幅增加,并有缓慢上升趋势,酸性磷酸酶的上升可以认为颗粒细胞中的溶酶体酶正发挥防御和杀菌作用,这有可能是黄芩苷中的黄酮化合物能够促进 ACP 磷酸基团的转移和代谢,促进其参与机体细胞中的物质代谢,为 ADP 磷酸化提供更多所需的无机磷酸,促进生长,从而提高其免疫力。

过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)对机体内产生活性氧自由基的清除具有重要作用,清除生物体内的过氧化氢,当活性氧产生速度超出抗氧化酶防御系统的清除能力时,就会导致脂质过氧化(LPO)、DNA 损伤等毒性效应(任加云等 2006),抗氧化酶活力的变化反映了机体的解毒代谢过程和能力,其中 SOD 能将 O_2 转化成 H_2O_2 ,CAT 能进一步将 H_2O_2 转化成水(Thomas *et al.* 1990)。本实验中,肝胰腺、肌肉、血淋巴在中、高浓度处理下 SOD、CAT 活力在实验时间内都呈激活状态,这与许多学者的研究结果相似(刘树青等 1999;刘岩等 2000;刘恒等 1998;Campa-Cordova *et al.* 2002);这说明在中或高浓度处理组在实验时间内 SOD 活力升高增强消除活性氧自由基能力,而且和 CAT 活力变化有一致性,CAT 活力的提高可以清除代谢中产生的 H_2O_2 ,使生物体免受较大的氧化损伤。这也预示着生物体抗氧化酶系统的增强,同时也能反映出对虾的免疫力和抗病能力差异(哈承旭等 2009)。

3.3 攻毒结果分析

虾类在感染致病微生物初始阶段时,血淋巴和组织里的各种非特异性免疫因子的活力及含量在短时间内

会急剧上升,促进机体抵抗病原微生物的侵袭,但随着感染时间的延长,由于病原微生物在虾类体内的大量增殖及其对血细胞的破坏而使得这些免疫因子的活力及含量继而下降(雷质文等 2001;姜建国等 2004; Hukmark *et al.* 1980)。因此可以推测出,随着鳃弧菌在中国对虾体内的大量增殖及其对血淋巴等免疫系统的破坏,免疫指标应将快速下降,然而本研究投喂含黄芩苷的饲料后,通过细菌感染实验可以发现在 36 h 后黄芩苷提取物各浓度组对中国对虾的死亡率则迅速上升,但是中、高浓度组死亡率分别在 72、48 h 内有缓慢上升的趋势,比同期空白组显著降低($P < 0.05$),与此同时中、高浓度组免疫保护率在 48 h 显著上升,亦比同期低浓度组显著升高($P < 0.05$),48h 后免疫保护率快速下降。因而证实了投喂含黄芩苷的饲料后,使非特异性免疫系统提高,增强了中国对虾的免疫力,充分说明黄芩苷能够提高中国对虾免疫力。从实验结果可以发现,中、高浓度组效果最为明显,但是药量过大亦会给对虾造成生长负担(李小彦等 2010),因此建议黄芩苷作为饲料添加剂的浓度为 100 mg/kg。

参 考 文 献

- 马爱敏,闫茂仓,常维山,谢起浪,陈少波,单乐州. 2009. 5 种中草药对美国红鱼生长和免疫机能的影响. 海洋科学, 33(12):96~102
- 王宜艳,孙虎山,李光友. 2002. 复合免疫药物对中国对虾血淋巴氧化酶和抗氧化酶活力的影响. 海洋科学进展, 20(3):79~83
- 王芸,李健,刘淇,王群. 2007. 5 种中草药对凡纳滨对虾生长及非特异性免疫功能的影响. 安徽农业科学, 35(26):8 236~8 239
- 王兴强,马甦,董双林. 2005. 盐度和蛋白质水平对凡纳滨对虾存活、生长和能量转换的影响. 中国海洋大学学报, 35(1):33~37
- 王秀华,宋晓玲,黄捷. 2004. 肽聚糖制剂对南美白对虾体液免疫因子的影响. 中国水产科学, 11(1):26~30
- 文敏,李雪,付守廷. 2008. 黄芩苷药理作用研究新进展. 沈阳药科大学学报, 25(2):158~162
- 任加云,潘鲁青,苗晶晶. 2006. 苯并(a)芘和苯并(k)荧蒽混合物对栉孔扇贝毒理学指标的影响. 环境科学学报, 26(7):1 180~1 186
- 江晓路,刘树青,张朝晖,管华诗. 1999. 多糖对中国对虾免疫功能的影响. 中国水产科学, 6(1):66~68
- 刘红柏,张颖,杨雨辉,卢彤岩,叶继丹. 2004. 5 种中草药作为饲料添加剂对鲢鳙体内细菌及生长的影响. 大连水产学院学报, 19(1):16~20
- 刘恒,李光友. 1998. 免疫多糖对养殖南美白对虾作用的研究. 海洋与湖沼, 29(2):113~118
- 刘树青,江晓路,牟海津,王慧谥,管华诗. 1999. 免疫多糖对中国对虾血清溶菌酶、磷酸酶和过氧化物酶的作用. 海洋与湖沼, 30(3): 278~283
- 刘岩,江晓路,吕青,管华诗. 2000. 聚甘露糖醛酸对中国对虾免疫相关酶活性溶菌溶血活性的影响. 水产学报, 24(6):549~553
- 李义,宋学宏,蔡春芳,潘新法,张雷明,王尧茂. 2002. 复方中药添加剂对罗氏沼虾免疫功能的增强作用. 饲料工业, 23(7):45~47
- 李小彦,李健,潘鲁青,张喆. 2010. 黄芩苷在中国对虾体内的代谢及残留消除规律研究. 中国海洋大学学报, 40(9):32~36
- 张明,王谦滨,赵增连,王雷,王宝杰,刘梅,蒋克勇. 2008. 免疫低聚糖对中国对虾的免疫效用研究. 渔业现代化, 35(4):58~61
- 张喜平,田华,程琪辉. 2003. 黄芩苷的药理作用研究现状. 中国药理学通报, 19(11):1 212~1 215
- 张家松. 2009. 聚肌胞和金丝桃素对凡纳滨对虾非特异性免疫调节以及抗 WSSV 感染的研究. 见:中国水产科学研究院黄海水产研究所博士后出站报告
- 张耀武,陈万光,李文辉,郭黛健. 2008. 复方中草药制剂对罗氏沼虾生长和非特异性免疫功能的影响. 淡水渔业, 38(6):42~45
- 陈萍,王清印,李健,李吉涛,刘淇. 2009. 溶藻弧菌对三疣梭子蟹溶菌酶和磷酸酶活性的影响. 渔业科学进展, 30(2):78~82
- 汪晓军,马赞,张奉学,朱宇同,郭兴伯,李秀惠. 2005. 黄芩苷对 ConA 致肝损伤小鼠肝组织 MDA 含量的影响. 世界华人消化杂志, 13(9):1 153~1 155
- 杨丛海. 2002. 中国对虾养殖现状及健康养殖管理的发展. 北京:海洋出版社, 36~41
- 杨巧芳,孟庆刚. 2008. 黄芩抗炎作用的药理研究述评. 中华中医药学刊, 26(7):1 443~1 445
- 何南海. 2004. 对虾免疫功能指标的建立及其应用. 厦门大学学报(自然科学版), 43(3):385~388
- 沈锦玉,钱冬. 1996. 中国对虾某些免疫指标的测定及免疫预防初步研究. 科技通报, 5:324~327
- 孟晓林,冷向军,李小勤,伦峰,刘贤敏. 2007. 杜仲对草鱼鱼种生长和血清非特异性免疫指标的影响. 上海海洋大学学报, 16(4):329~333
- 罗日祥. 1997. 中草药制剂对中国对虾免疫活性的诱导作用. 海洋与湖沼, 28(6):573~578
- 哈承旭,刘萍,何玉英. 2009. 氯化铵对“黄海 1 号”中国对虾免疫相关酶类的影响. 渔业科学进展, 30(1):34~40
- 郭美美,李健. 2005. 中草药制剂对凡纳滨对虾生长及血淋巴中免疫因子的影响. 饲料工业, 26(6):6~10
- 姜国建,于仁诚,王云峰,颜天,周名江. 2004. 对虾血细胞中一氧化氮合成酶鉴定与分析方法研究. 中国水产科学, 11(3):177~184
- 姜国建,于仁诚,王云峰. 2004. 中国明对虾血细胞中一氧化氮合成酶的鉴定及其在白斑综合征病毒感染过程中的变化. 海洋与湖沼, 35(4):342~350
- 雷质文,黄捷,杨冰,俞开康. 2001. 感染白斑综合征病毒(WSSV)对虾相关免疫因子的研究. 中国水产科学, 8(4):46~51
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248~254

- Campa-Cordova, A. L., Hernández-Saavedra, N. Y., and Ascencio, F. 2002. Superoxide dismutase as modulator of immune function in American white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 133:557~565
- Hukmark, D., Steiner, H., and Rasmusn, T. 1980. Purification and properties of three inducible bacterial protein from hemolymph of immunized pupae of *Hyalaphora cecropia*. *Eur. J. Biochem.* 106(1):7~16
- Hultmark, D., and Steiner, H. 1980. Studies on the method of lysozyme measurement in serum. *Eur. Biochem.* 106:7~16
- Immanue, G., Vincybai, C., Sivaram, V. *et al.* 2004. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load On shrimp *Penaeus indicus juveniles*. *Aquaculture*, 236(1-4):53~65
- Lackie, A. M. 1980. Invertebrate immunity. *Parasitology*, 80:393~412
- Sivaram, M., Babu, M., Immanuel, G. *et al.* 2004. Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelustauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio parahaemolyticus* infections. *Aquaculture*, 237(1-4):9~20
- Sritunyalucksana, K., Sithisarn, P., and Withayachumnarnkul, B. 1999. Activation of prophenoloxidase, agglutinin and antibacterial activity in haemolymph of the black tiger prawn, *Penaeus monodon*, by immunostimulants. *Fish&Shellfish Immunology*, 9:21~30
- Yin, G. J., Wiegertjes, G., Li, Y. M., Schrama, J., Verreth, J., Xu, P., and Zhou, H. Q. 2004. Effect of *Astragalus radix* on proliferation and nitric oxide production of head kidney macrophages in *Cyprinus carpio*: an in vitro study. *J. Fisheries of China*, 28(6):628~632

《中国渔业质量与标准》征订启事

《中国渔业质量与标准》是由农业部主管、中国水产科学研究院主办的综合性学术刊物。

本刊宗旨是:刊载我国渔业领域质量安全和标准等方面的政策法规、技术资讯及研究成果,搭建渔业质量与标准工作沟通交流的平台,提高渔业质量和标准水平,促进渔业可持续发展。主要收录水产品质量安全研究和标准研究等方面的具有创新性和学术价值的研究论文、综述等。内设栏目包括质量安全监管、渔业标准化、学科建设、学术研究、检验与检测、质量认证、动态信息和国外译文等。

本刊现为季刊,大16开,每逢3、6、9、12月出版,自办发行,每期定价18元,全年价72元,加邮费全年定价共计80元。凡需订阅本刊者,可直接与编辑部联系征订。

本刊地址:北京丰台区永定路南青塔150号《中国渔业质量与标准》编辑部

邮编:100141

电话:010-68690728

联系人:穆迎春 许玉艳

热忱欢迎广大读者征订本刊,并向关心、关注本刊发展的广大作者、读者致以衷心感谢!

《中国渔业质量与标准》编辑部