

张红霞,王 洋,杨 广,等. 腹腔注射鸡血藤醇提物对黄颡鱼免疫相关指标及抗病力的影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(24):166-170.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.24.040

腹腔注射鸡血藤醇提物对黄颡鱼免疫 相关指标及抗病力的影响

张红霞¹,王 洋¹,杨 广¹,曾祥茜²,朱国霞¹,方珍珍¹,刘晋菰¹,张宝龙³,吴 旋⁴,白东清¹

(1. 天津农学院水产学院/天津市水产生态及养殖重点实验室,天津 300384; 2. 天津渤海水产研究所,天津 300457;

3. 天津现代晨辉科技集团有限公司,天津 301800; 4. 天津市静海区畜牧水产业发展服务中心,天津静海 301600)

摘要:为探究鸡血藤醇提物对黄颡鱼免疫相关指标和抗病力的影响,选取 720 尾全雄黄颡鱼,初始体质量为 (34.23 ± 1.43) g,初始体长为 (14.12 ± 0.28) cm,随机分为 6 组,腹腔注射不同水平的鸡血藤醇提物溶液(0、60、120、240、480、960 mg/L)1 mL/尾,依次标记为 Z1~Z6 组,其中 Z1 组为对照组。养殖 7 d 后,测定黄颡鱼各组织及血清的免疫相关指标;养殖 7 d 后进一步以嗜水气单胞菌攻毒,计算累计死亡率和免疫保护率。结果显示,注射鸡血藤醇提物提高了黄颡鱼各组织 SOD 和 CAT 活性,提高了 GSH 和 GSH-Px 含量,降低了 MDA 含量,且提升或降低比例随鸡血藤质量浓度增加而上升。腹腔注射鸡血藤醇提物可降低各组织中 NO 含量,而提高血清中 NO 含量,鸡血藤醇提物提高了黄颡鱼血清补体 C3 和白蛋白含量,当鸡血藤醇提物质量浓度为 960 mg/L 时,增加幅度最大。鸡血藤醇提物不影响黄颡鱼血浆中球蛋白(IgM)的含量。鸡血藤醇提物可有效降低嗜水气单胞菌攻毒的死亡率,提高免疫保护率。以最高浓度 960 mg/L 鸡血藤处理的黄颡鱼,累计死亡率较对照组降低 34.6%,免疫保护率提高了 2.50 倍。鸡血藤醇提物增加了肝胰脏中 GOT、GPT 含量,降低了血清中 GOT、GPT 含量。综合免疫相关指标和抗病力,腹腔注射鸡血藤醇提物最佳浓度为 960 mg/L。

关键词:腹腔注射;黄颡鱼;鸡血藤醇提物;免疫相关指标;抗病力

中图分类号:S963.73+6

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2019)24-0166-05

鸡血藤为豆科密花豆的干燥藤茎,是一味富含黄酮类化合物的中草药,主要分布于广东、广西及云南等地区^[1]。通过现代药理学分析可知,鸡血藤具有抗氧化、抗病毒、抗肿瘤、调节脂代谢等作用^[2-5]。鸡血藤成分复杂,其醇提物的主要活性成分为黄酮。黄酮是一类化合物,普遍具有消除自由基、抑菌抗癌及调节脂代谢的活性^[6]。可见富含黄酮的鸡血藤醇提物具有广阔的应用前景。

黄颡鱼属于鲇形目、鲿科、黄颡鱼属,广泛分布于我国各大水系之中,是一类小型淡水经济鱼类。黄颡鱼鱼肉氨基酸含量丰富,肉质细嫩、味道鲜美、营养价值高、无肌间刺,且具有滋补作用和药用价值,得到消费者普遍认可,是目前国内主要养殖鱼类品种之一^[7-8]。然而,近年来由于养殖密度增加,黄颡鱼疾病频发,发病池塘死亡率高,造成严重经济损失,制约了黄颡鱼养殖业的健康可持续发展。基于上述原因,本试

验通过腹腔注射方式探究鸡血藤醇提物对黄颡鱼非特异性免疫能力与血脂水平的影响,为鸡血藤醇提物作为黄颡鱼饲料免疫增强剂提供前期数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

同一批次 720 尾健康全雄黄颡鱼,购自天津蓝科水产养殖有限公司。初始体质量为 (34.23 ± 1.43) g,初始体长为 (14.12 ± 0.28) cm。鸡血藤醇提物粉末,购自西安瑞林生物科技有限公司,使用前用无菌生理盐水(0.85%)分别稀释成 60、120、240、480、960 mg/L。

饲料采用鱼粉、豆粕、花生粕、豆油等原料配制,以上原料均购自天津市天祥水产有限责任公司。配制的饲料营养组成为:粗蛋白含量 38.75%、粗脂肪含量 6.23%、粗灰分含量 10.13%、粗水分含量 6.35%、钙含量 1.26%、磷含量 1.90%。

嗜水气单胞菌由中国农业科学院饲料研究所赠送。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计及养殖管理 养殖试验在天津蓝科水产养殖有限公司一栋 700 m² 孵化车间内进行,使用直径 1.5 m,高度 0.75 m 的圆形孵化桶 18 个,将所选取的 720 尾黄颡鱼随机分为 6 组,每组设置 3 个重复,每个重复养殖 40 尾鱼。其中 1 组注射生理盐水 1 mL 标记为 Z1,为对照组,其余 5 组鱼分别注射 1 mL 质量浓度为 60、120、240、480、960 mg/L 的鸡血藤醇提物溶液,依次标记为 Z2、Z3、Z4、Z5、Z6。注射后养殖 7 d,每个平行随机选取 10 尾鱼取血解剖并取相应组织,测定

收稿日期:2018-09-10

基金项目:“天津市水产产业技术体系创新团队”淡水鱼营养岗位专家项目(编号:ITFRS2017003);天津市科委项目(编号:16JCTPJC44600、16YFNZNC00070)。

作者简介:张红霞(1992—),女,山西大同人,硕士研究生,从事水产动物营养与饲料学方向研究,E-mail:1720639788@qq.com;共同第一作者:王 洋(1986—),女,吉林吉林人,博士,讲师,主要从事水产养殖的教学和科研工作,E-mail:474221161@qq.com。

通信作者:白东清,博士,教授,硕士生导师,主要从事水产动物营养与饲料学的教学和科研工作。E-mail:445425696@qq.com; baidongqing@tjau.edu.cn。

各项生理生化指标。每个平行取 10 尾鱼继续养殖,用于攻毒试验。养殖期间 24 h 连续增氧,每天于 09:00、17:00 进行投饵,日换水量 1/3。

1.2.2 血液及组织采集 养殖 7 d 后,首先取尾静脉血,4 500 r/min 离心 15 min 取上清液,制得血清样品,于 -80 ℃ 冻存待测。然后在冰浴条件下解剖,取鳃、脑、头肾、中肾、肝胰脏、脾脏,用镊子剔除掉结缔组织和脂肪组织后用生理盐水冲洗干净,称取组织 0.4 g 后加 9 倍体积的 0.85% 生理盐水制成 10% 的匀浆液,然后在 4 ℃ 4 000 r/min 离心 20 min,静置 5 min 后,吸取上清液转移至 2 mL 离心管中,暂存于 -80 ℃ 超低温冰箱,用于测定生理生化指标。

1.2.3 生理生化指标的测定 超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、一氧化氮(NO)、谷草转氨酶(GOT)、谷丙转氨酶(GPT)、白蛋白(ALB)、补体 C3、免疫球蛋白(IgM)活性均采用南京建成公司试剂盒,依照说明书进行。

1.2.4 攻毒致死率测定 选取注射不同浓度鸡血藤醇提物的黄颡鱼,每箱取 10 尾鱼,每个处理 30 尾,按每 100 g 体质量 0.2 mL 的比例腹腔注射嗜水气单胞菌菌液(活化好的嗜水气单胞菌,以无菌 PBS 缓冲液调浓度至 2×10^8 CFU/mL),继续饲养 7 d,每天定时记录各组死亡尾数情况,试验结束后计算各组的累计死亡率和免疫保护率。

$$\text{免疫保护率} = (1 - N_2/N_1) \times 100\%;$$

$$\text{累计死亡率} = H_2/H_1 \times 100\%。$$

式中: N_1 为对照组死亡率, N_2 为试验组死亡率, H_1 为受感染鱼尾数, H_2 为终死亡鱼尾数。

1.3 数据处理

采用 SPSS 16.0 软件对原始数据进行 One - ANOVA 处理,以 0.05 作为差异性显著水平,表格中试验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果与分析

2.1 腹腔注射鸡血藤醇提物对黄颡鱼生理生化指标的影响

2.1.1 鸡血藤醇提物对黄颡鱼体内 SOD 活性的影响 各组黄颡鱼组织中 SOD 活性从高到低为中肾 > 肝胰脏 > 头肾 > 鳃 > 血清 > 脾脏 > 脑。与对照组相比,注射鸡血藤醇提物相同组织的 SOD 活力有所提高(表 1)。头肾、脾脏、鳃中 SOD 活力随着鸡血藤醇提物浓度的增加而上升($P < 0.05$)。注射组黄颡鱼脑中 SOD 活力均显著高于 Z1($P < 0.05$),试验组之间变化不明显($P > 0.05$)。Z5 和 Z6 组显著提高了肝胰脏和中肾中 SOD 活力($P < 0.05$)。其中 Z6 组中肾和肝胰脏酶活力分别是对照组的 1.14 倍和 1.13 倍($P < 0.05$)。当鸡血藤醇提物质量浓度增加至 960 mg/L(Z6)时,血清 SOD 活力上升为对照组的 1.06 倍($P < 0.05$)。

表 1 鸡血藤醇提物对黄颡鱼体内 SOD 活性的影响

组别	SOD 活性						
	肝胰脏 (U/mg 蛋白)	脾脏 (U/mg 蛋白)	中肾 (U/mg 蛋白)	头肾 (U/mg 蛋白)	鳃 (U/mg 蛋白)	脑 (U/mg 蛋白)	血清 (U/mL)
Z1	155.06 ± 2.38c	64.33 ± 2.03d	164.78 ± 3.81c	110.19 ± 1.95d	97.15 ± 4.13d	20.95 ± 1.43b	69.56 ± 0.98b
Z2	154.36 ± 1.60c	71.84 ± 8.00c	163.61 ± 18.28c	147.17 ± 7.40c	112.73 ± 7.14cd	28.76 ± 0.26a	69.56 ± 0.12b
Z3	156.93 ± 0.42c	85.39 ± 6.25bc	157.70 ± 8.68c	159.41 ± 8.29bc	120.54 ± 6.33c	30.39 ± 3.38a	69.94 ± 4.54b
Z4	155.29 ± 0.58c	93.76 ± 6.79b	162.26 ± 0.19c	171.27 ± 1.78b	119.33 ± 4.69c	31.02 ± 0.77a	69.83 ± 7.82b
Z5	165.56 ± 3.06b	105.94 ± 2.46a	179.70 ± 6.65b	180.59 ± 7.31b	131.18 ± 8.67b	28.19 ± 4.82a	67.70 ± 1.35b
Z6	174.56 ± 0.02a	109.04 ± 5.85a	187.21 ± 13.69a	226.21 ± 1.28a	168.62 ± 3.31a	32.57 ± 7.07a	73.68 ± 0.15a

注:同列数据后不同小写字母表示同列数据间有显著性差异($P < 0.05$)。下表同。

2.1.2 鸡血藤醇提物对黄颡鱼体内 CAT 活性的影响 由表 2 可知,对照组及各处理组黄颡鱼体内 CAT 活性均为脑中最高,其次为肝胰脏、鳃、中肾、头肾和脾脏。除 Z2 组中肾和脑外,其余注射鸡血藤醇提物组的各组织 CAT 活性均显著高于对照组($P < 0.05$)。随着鸡血藤醇提物浓度的增加,黄颡鱼肝胰脏、脾脏、中肾、头肾和脑中 CAT 活性逐渐升高,并在 Z6 组达到最高值。Z6 组肝胰脏 CAT 活性为 (198.55 ±

8.56) U/mg 蛋白,是对照组的 1.93 倍($P < 0.05$),脾脏 CAT 活性(7.53 ± 0.91) U/mg 蛋白,为对照组的 1.75 倍($P < 0.05$),Z6 组中肾、头肾 CAT 活力分别上升至对照组的 2.44 倍和 1.80 倍($P < 0.05$)。Z2 ~ Z5 组黄颡鱼的鳃和血清中 CAT 活力均高于对照组,但各组间没有显著差异,同样是在 Z6 组出现了最高值,CAT 活性分别为 (106.97 ± 4.63) U/mg 蛋白和 (74.98 ± 3.13) U/mg 蛋白($P < 0.05$)。

表 2 鸡血藤醇提物对黄颡鱼体内 CAT 活性的影响

组别	CAT 活性						
	肝胰脏 (U/mg 蛋白)	脾脏 (U/mg 蛋白)	中肾 (U/mg 蛋白)	头肾 (U/mg 蛋白)	鳃 (U/mg 蛋白)	脑 (U/mg 蛋白)	血清 (U/mL)
Z1	103.14 ± 4.73d	4.30 ± 0.77c	20.61 ± 3.72d	11.20 ± 0.39c	65.84 ± 4.57c	202.36 ± 0.61c	56.82 ± 3.51c
Z2	129.20 ± 0.33c	5.87 ± 1.15bc	23.94 ± 0.66d	14.09 ± 0.36bc	79.78 ± 9.56b	208.69 ± 4.06c	61.25 ± 0.06b
Z3	127.36 ± 3.12c	5.27 ± 0.37bc	30.21 ± 6.27c	16.41 ± 1.85b	75.07 ± 1.58b	219.41 ± 1.24bc	64.27 ± 0.64b
Z4	128.41 ± 16.51c	6.08 ± 1.79b	33.92 ± 4.99c	15.14 ± 5.84bc	77.87 ± 2.55b	219.99 ± 3.95bc	61.38 ± 4.47b
Z5	179.46 ± 10.33b	6.38 ± 0.61b	43.68 ± 8.65b	18.56 ± 0.55ab	79.53 ± 7.24b	233.85 ± 20.78b	64.18 ± 1.02b
Z6	198.55 ± 8.56a	7.53 ± 0.91a	50.31 ± 9.94a	20.16 ± 3.51a	106.97 ± 4.63a	274.55 ± 7.85a	74.98 ± 3.13a

2.1.3 鸡血藤醇提物对黄颡鱼体内 MDA 含量的影响 由表 3 可知,注射鸡血藤醇提物降低了各组织中 MDA 的含量,但降低效果在不同组织中略有不同。肝胰脏、鳃和血清中 MDA 含量随鸡血藤质量浓度的增加呈现明显的下降趋势,并在 Z6 组降至最低,分别为(0.32±0.01)、(1.22±0.11) nmol/mg 蛋白和(7.72±0.32) nmol/mL($P<0.05$)。但 Z3 组肝胰脏 MDA 含量与对照组无显著差异($P>0.05$)。最低质量浓度

的鸡血藤醇提物(Z2)对中肾和头肾 MDA 含量没有影响($P>0.05$),Z3~Z6 组中肾和头肾 MDA 含量随着鸡血藤质量浓度的增加而降低。Z4~Z6 鸡血藤处理组脾脏的 MDA 含量显著低于对照组($P<0.05$)。Z2、Z4 和 Z6 组脑中 MDA 含量显著低于对照组,其中 Z6 组含量最低,为(8.44±0.70) nmol/mg 蛋白($P<0.05$)。而 Z3、Z5 组脑中 MDA 含量与对照组无差异($P>0.05$)。

表 3 鸡血藤醇提物对黄颡鱼体内 MDA 含量的影响

组别	MDA 含量						
	肝胰脏 (nmol/mg 蛋白)	脾脏 (nmol/mg 蛋白)	中肾 (nmol/mg 蛋白)	头肾 (nmol/mg 蛋白)	鳃 (nmol/mg 蛋白)	脑 (nmol/mg 蛋白)	血清 (nmol/mL)
Z1	0.60±0.10a	1.10±0.17a	3.83±0.34a	1.54±0.04a	2.21±0.21a	12.18±0.22a	11.79±0.11a
Z2	0.50±0.03b	1.07±0.10a	3.37±1.62a	1.38±0.17a	1.99±0.68ab	11.14±0.29b	9.40±0.11bc
Z3	0.59±0.05a	1.01±0.16a	2.78±1.55b	1.13±0.28ab	1.53±0.13b	12.10±0.21a	10.67±0.21b
Z4	0.31±0.01c	0.73±0.07ab	3.21±0.33a	1.15±0.50ab	1.53±0.02b	10.20±0.94ab	10.15±0.11b
Z5	0.36±0.01c	0.65±0.07b	2.91±0.32ab	0.97±0.08b	1.44±0.15b	12.33±0.64a	10.52±0.21b
Z6	0.32±0.01c	0.36±0.01c	1.90±0.62c	0.27±0.01c	1.22±0.11c	8.44±0.70c	7.72±0.32c

2.1.4 鸡血藤醇提物对黄颡鱼体内 GSH 含量的影响 由表 4 可知,注射鸡血藤醇提物提高了各组织中 GSH 的含量,中肾除 Z5 显著降低外,其余各组与对照组无明显差别,但提高效果在不同组织中略有不同。肝胰脏、脾脏、头肾、脑、血清中 GSH 的含量随着鸡血藤浓度的增加,呈现明显的上升趋势,并在 Z6 组升至最高,分别为(55.16±1.22)、(36.13±

3.55)、(37.83±0.95)、(18.43±7.78) μmol/g 蛋白和(321.05±17.73) μmol/mL($P<0.05$)。仅 Z5 和 Z6 处理组鳃的 GSH 含量较对照组有所提高,其中 Z6 组含量最高($P<0.05$),为(17.05±2.99) μmol/g 蛋白,而低浓度组与对照组无显著差异($P>0.05$)。

表 4 鸡血藤醇提物对黄颡鱼体内 GSH 含量的影响

组别	GSH 含量						
	肝胰脏 (μmol/g 蛋白)	脾脏 (μmol/g 蛋白)	中肾 (μmol/g 蛋白)	头肾 (μmol/g 蛋白)	鳃 (μmol/g 蛋白)	脑 (μmol/g 蛋白)	血清 (μmol/mL)
Z1	12.13±0.86c	17.01±2.83c	0.36±0.11a	22.63±4.91c	8.35±1.06c	14.22±0.14b	139.40±20.56d
Z2	34.75±0.23b	17.54±2.45c	0.33±0.01a	30.68±6.35b	7.47±3.68c	14.70±0.32b	197.08±19.73c
Z3	37.77±0.32b	21.24±4.37b	0.33±0.06a	33.65±2.68ab	8.30±0.12c	17.99±0.63a	291.16±35.75b
Z4	35.86±1.06b	32.80±7.11a	0.37±0.32a	33.04±0.56ab	10.14±3.05bc	17.33±8.76a	279.79±66.28b
Z5	40.29±3.48b	34.72±3.02a	0.29±0.01b	34.05±1.20ab	12.04±1.35b	17.53±3.64a	304.86±69.79ab
Z6	55.16±1.22a	36.13±3.55a	0.33±0.03a	37.83±0.95a	17.05±2.99a	18.43±7.78a	321.05±17.73a

2.1.5 鸡血藤醇提物对黄颡鱼体内 GSH-Px 活性的影响 由表 5 可知,注射鸡血藤醇提物提高了各组织中 GSH-Px 的活性。肝胰脏、脾脏、头肾、脑、血清中 GSH-Px 活性随着鸡血藤浓度的增加,呈现明显的上升趋势,并在 Z6 组升至最高,分别为(140.64±21.16)、(23.89±0.17)、(139.44±4.79)、(16.63±3.28) μmol/g 蛋白和(89.67±7.46) μmol/mL($P<0.05$)。而中肾在 Z5 组升至最高,为(54.29±

2.21) μmol/g 蛋白($P<0.05$)。高浓度鸡血藤处理组(Z5~Z6)鳃的 GSH-Px 活性显著高于对照组,其中 Z6 组活性最高,为(18.36±1.28) μmol/g 蛋白($P<0.05$),而低浓度组与对照组无显著差异($P>0.05$)。

2.1.6 鸡血藤醇提物对黄颡鱼体内 NO 含量的影响 如表 6 可知,各处理组黄颡鱼体内 NO 含量为鳃>肝胰脏>血清>脾脏>脑>中肾>头肾。注射鸡血藤醇提物对各组织及血清

表 5 鸡血藤醇提物对黄颡鱼体内 GSH-Px 活性的影响

组别	GSH-Px 活性						
	肝胰脏 (μmol/g 蛋白)	脾脏 (μmol/g 蛋白)	中肾 (μmol/g 蛋白)	头肾 (μmol/g 蛋白)	鳃 (μmol/g 蛋白)	脑 (μmol/g 蛋白)	血清 (μmol/mL)
Z1	97.09±16.18c	10.42±9.29c	23.28±3.07c	108.65±4.83c	12.94±2.59c	10.74±3.29b	54.07±16.78c
Z2	103.90±12.64b	14.45±6.94b	24.54±6.39c	113.42±9.32b	12.53±4.30c	13.18±3.45ab	69.89±13.05b
Z3	109.85±18.16b	13.81±3.78b	39.59±32.45b	126.72±8.71ab	12.48±0.42c	12.26±2.32ab	64.62±20.51b
Z4	94.09±25.75c	22.56±10.62a	43.66±4.51ab	136.04±2.28a	12.81±4.31c	12.28±0.96ab	75.16±9.32ab
Z5	125.26±7.11ab	20.83±0.71a	54.29±2.21a	132.14±4.18a	14.12±1.51b	15.28±7.19a	83.08±24.24a
Z6	140.64±21.16a	23.89±0.17a	54.18±5.29a	139.44±4.79a	18.36±1.28a	16.63±3.28a	89.67±7.46a

中 NO 含量的影响不同。血清中 NO 含量随着鸡血藤醇提物浓度的增加呈逐渐上升的趋势,并在 Z5 和 Z6 组达到最高值,分别为(4.84 ± 0.69)、(4.63 ± 0.28) μmol/mL ($P < 0.05$)。而脾脏、头肾、鳃、脑中 NO 含量随着鸡血藤醇提物浓度的增加而均呈逐渐下降的趋势;Z4 组脾脏与 Z1 组差异最为显著,

下降了 30.3% ($P < 0.05$);Z6 组头肾 NO 含量与对照组相比下降了 55.6% ($P < 0.05$);鳃和脑中 NO 含量均在 Z4、Z5 和 Z6 组中与 Z1 组相比显著下降,而 Z2、Z3 组与对照组相当 ($P > 0.05$)。注射鸡血藤醇提物对肝胰脏和中肾 NO 含量无显著影响 ($P > 0.05$)。

表 6 鸡血藤醇提物对黄颡鱼体内 NO 含量的影响

组别	NIO 含量						
	肝胰脏 (U/mg)	脾脏 (U/mg)	中肾 (U/mg)	头肾 (U/mg)	鳃 (U/mg)	脑 (U/mg)	血清 (nmol/mL)
Z1	0.36 ± 0.06	1.52 ± 0.15a	0.36 ± 0.11	0.18 ± 0.02a	2.82 ± 1.61a	1.19 ± 0.17a	2.01 ± 1.58c
Z2	0.35 ± 0.07	1.20 ± 0.62bc	0.33 ± 0.01	0.13 ± 0.06b	2.79 ± 0.90a	1.16 ± 0.20a	3.45 ± 0.08b
Z3	0.32 ± 0.01	1.39 ± 0.23b	0.33 ± 0.06	0.11 ± 0.00b	2.59 ± 0.38a	1.15 ± 0.68a	3.96 ± 0.22ab
Z4	0.34 ± 0.03	1.06 ± 0.85c	0.37 ± 0.32	0.16 ± 0.16a	1.92 ± 0.26b	0.85 ± 0.73b	3.90 ± 0.60ab
Z5	0.30 ± 0.08	1.40 ± 0.46b	0.34 ± 0.01	0.12 ± 0.04b	1.99 ± 0.15b	0.43 ± 0.24bc	4.84 ± 0.69a
Z6	0.29 ± 0.08	1.60 ± 0.09a	0.33 ± 0.03	0.08 ± 0.05c	1.89 ± 1.10b	0.39 ± 0.21c	4.63 ± 0.28a

2.1.7 鸡血藤醇提物对黄颡鱼肝胰脏和血清转氨酶活性的影响 各处理组黄颡鱼体内 2 种转氨酶 GOT 和 GPT 的活性均为肝脏中较高,而血清中较低。与对照组相比,注射鸡血藤醇提物的黄颡鱼肝胰脏中 GOT、GPT 活性均随着鸡血藤浓度的上升而增加,在 Z6 组达到最高值,分别为(151.44 ± 5.43) IU/g 蛋白和(146.78 ± 6.68) IU/g 蛋白,为对照组的

1.43 倍和 1.22 倍 ($P < 0.05$)。而血清中 GOT、GPT 活性均随鸡血藤浓度的增加而呈逐渐下降的趋势,在 Z6 组降至最低。与对照组(Z1)相比,分别下降了 39.6% 和 48.0% ($P < 0.05$)。血清中 GOT/GPT 的比值随鸡血藤醇浓度变化的规律不明显,Z2 和 Z3 组略高于对照组,而 Z4 和 Z5 组低于对照组,Z6 组与对照组接近 ($P > 0.05$)。

表 7 鸡血藤醇提物对黄颡鱼转氨酶活性的影响

转氨酶	组别	肝胰脏 (IU/g · prot)	血清 Serum (IU/L)	血清 GOT/GPT
GOT	Z1	105.68 ± 52.66d	27.58 ± 3.86a	1.88
	Z2	117.41 ± 71.48c	27.75 ± 9.66a	2.07
	Z3	121.84 ± 52.88bc	26.35 ± 4.92a	2.25
	Z4	130.15 ± 24.92b	23.79 ± 2.68a	1.62
	Z5	136.84 ± 0.50b	22.97 ± 6.49a	1.65
	Z6	151.44 ± 5.43a	15.45 ± 3.68b	1.89
GPT	Z1	120.29 ± 5.31c	14.69 ± 1.36a	—
	Z2	126.01 ± 5.06c	13.37 ± 0.73a	—
	Z3	130.72 ± 3.23b	11.71 ± 6.11b	—
	Z4	132.98 ± 6.61b	14.63 ± 1.47a	—
	Z5	139.41 ± 2.60b	13.89 ± 0.80a	—
	Z6	146.78 ± 6.68a	8.15 ± 1.54c	—

2.1.8 鸡血藤醇提物对黄颡鱼血清其他免疫相关指标的影响 由表 8 可知,注射鸡血藤醇提物 7 d 后,黄颡鱼血清中补体 C3、白蛋白含量随着鸡血藤醇提物浓度的增加而逐渐上升,均在 Z6 组出现最大值,分别为(183.94 ± 6.20) mg/L 和(37.03 ± 2.58) g/L,是对照组的 3.12 倍和 1.74 倍 ($P < 0.05$)。注射鸡血藤醇提物对黄颡鱼血清中球蛋白含量没有显著影响 ($P > 0.05$)。

2.1.9 鸡血藤醇提物对黄颡鱼抗病力的影响 由表 9 可知,鸡血藤醇提物对黄颡鱼抗病力的影响,注射鸡血藤醇提物显著降低了嗜水气单胞菌攻毒黄颡鱼的累计死亡率,提高了免疫保护率,且死亡率随着鸡血藤醇提物浓度的增加而下降。最高剂量组 Z6 组死亡率仅有(42.5 ± 3.45)%,较对照组下降了 34.6% ($P < 0.05$)。免疫保护率随着鸡血藤浓度的增加而上升,在 Z6 组达到最大值 37.0%。

3 讨论

生物细胞内普遍含有 SOD、CAT、GSH - Px 等抗氧化酶,可以清除细胞代谢过程中产生的自由基,保护细胞生物大分子不受损伤,防止过氧化物 MDA 等的产生^[9-10]。其中,SOD 将氧自由基转化为 H₂O₂,H₂O₂ 再被 CAT 等转化为 H₂O^[11-12]。GSH - Px 可以通过催化谷胱甘肽(GSH),将有氧的过氧化物转化为无毒的羟基化合物,起到保护细胞膜结构和提高抗氧化能力的作用。本研究发现,腹腔注射鸡血藤醇提物后,黄颡鱼血清及各组织中 SOD、CAT、GSH - Px 活性及 GSH、NO 含量显著提高,同时代表脂质过氧化的 MDA 含量下降,表明鸡血藤醇提物提高了黄颡鱼的抗氧化能力^[13]。这可能与鸡血藤具有清除自由基和抗氧化的作用相吻合^[14-15]。NO 是细胞间传递信息的重要物质之一,并且具有介导炎症

表 8 鸡血藤醇提物对黄颡鱼血清其他免疫指标的影响

组别	补体 C3 (mg/L)	白蛋白 ALB (g/L)	球蛋白 IgM (mg/L)
Z1	58.92 ± 0.06e	21.25 ± 3.19c	6.06 ± 0.99
Z2	83.71 ± 8.67d	23.19 ± 4.00bc	6.34 ± 0.40
Z3	115.24 ± 1.18c	28.59 ± 0.40b	6.32 ± 0.68
Z4	147.51 ± 7.06b	29.40 ± 0.36b	6.10 ± 0.76
Z5	151.28 ± 8.06b	33.97 ± 0.45ab	5.75 ± 0.54
Z6	183.94 ± 6.20a	37.03 ± 2.58a	5.83 ± 0.77

表 9 鸡血藤醇提物对黄颡鱼抗病力的影响

组别	累计死亡率 (%)	免疫保护率
Z1	65.0 ± 0.00	—
Z2	57.5 ± 3.45	14.81 ± 5.66
Z3	52.5 ± 3.45	22.22 ± 5.66
Z4	47.5 ± 3.45	29.63 ± 5.66
Z5	47.5 ± 3.45	29.63 ± 5.66
Z6	42.5 ± 3.45	37.04 ± 5.55

反应及细胞免疫等功能^[16-17]；机体在炎症状态下，巨噬细胞产生大量 NO，与超氧阴离子等氧自由基反应，产物对细胞有毒性^[18-19]；本试验中鸡血藤醇提物降低了脾脏、头肾、鳃和脑中 NO 的含量，说明鸡血藤醇提物不会造成由 NO 引起的组织损伤。鸡血藤醇提物小幅度提高了黄颡鱼血清中 NO 含量，可能发挥积极的免疫调节作用。

腹腔注射鸡血藤醇提物降低了黄颡鱼肝胰脏及血清转氨酶的活性，并且降低了 GOT/GPT 比值。GOT 和 GPT 是氨基酸代谢过程中 2 个重要的氨基转移酶，是鉴定肝损伤的标志性指标。人类 GOT/GPT 比值越大时说明肝损伤越发严重，GOT/GPT 比值 > 2 时为酒精肝，比值 > 1 时为慢性乙肝。目前鱼类 GOT/GPT 比值与其肝损伤程度的关系尚不明确，对照组 GOT/GPT 比值为 1.87，注射鸡血藤的 Z6 组为 1.75，较对照组有所下降。若参考人类转氨酶比值，说明腹腔注射鸡血藤醇提物可以降低肝损伤。鸡血藤的护肝作用在哺乳动物中也有报道^[20]，但其作用机制还有待深入研究。

腹腔注射鸡血藤醇提物增加了黄颡鱼血清其他免疫指标（补体 C3、白蛋白）的水平，并且可以降低嗜水气单胞菌攻毒后的累计死亡率，提高免疫保护率。鱼类属于低等脊椎动物，其特异性免疫结构尚不完善。补体 C3、白蛋白和球蛋白（IgM）是鱼体重要的免疫指标，其中补体 C3 含量最多，在多种免疫调节中起到关键起始作用^[21]。本试验中黄颡鱼血清补体 C3 含量随着注射鸡血藤浓度的增加而逐渐上升。白蛋白是血浆中含量最多的蛋白质，主要承担着体内贮存运输、维持血液胶体渗透压、清除自由基等作用^[22]。本试验中黄颡鱼血清白蛋白呈逐渐上升的趋势，并在 Z6 组达到最大值。IgM 含量在鱼类免疫球蛋白中含量最为丰富，注射鸡血藤醇提物并未改变血清中球蛋白含量，可见鸡血藤主要提高免疫相关指标活性，从而提高黄颡鱼的抗病力。

4 结论

腹腔注射鸡血藤醇提物可有效提高黄颡鱼免疫力以及抗病力，鸡血藤醇提物浓度为 960 mg/L 效果最好。鸡血藤醇提

物有望作为免疫增强剂应用于黄颡鱼养殖中。

参考文献：

[1]汪盈盈,柳继锋. 中药鸡血藤研究进展[J]. 产业与科技论坛, 2017,16(22):42-43.

[2]刘仰斌,张志花. 鸡血藤提取物对脑缺血再灌注损伤大鼠 ATP 酶活性影响的实验研究[J]. 牡丹江医学院学报,2017,38(1):12-15.

[3]谭 潇,董宪陆,郭代红,等. 鸡血藤醇提物及其活性成分儿茶素抗辐射作用及机制研究[J]. 中国中药杂志,2016,41(9):1718-1724.

[4]刘仰斌,张志花. 鸡血藤对去卵巢豚鼠脂代谢影响的实验研究[J]. 宜春学院学报,2014,36(3):65-68,117.

[5]程 悦,符 影,王志宇,等. 鸡血藤提取物中缩合鞣质的含量测定及其抗肿瘤活性初步研究[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2011,50(2):75-80.

[6]曹 斌. 鸡血藤中黄酮类化合物药理作用研究进展[J]. 内科, 2017,12(3):341-343.

[7]李明锋. 黄颡鱼生物学研究进展[J]. 现代渔业信息,2010,25(9):16-22.

[8]张滕闲,陈 钱,张宝龙,等. 姜黄素对黄颡鱼生长、消化与抗氧化能力的影响[J]. 渔业科学进展,2017,38(6):56-63.

[9]Zámocký M, Koller F. Understanding the structure and function of catalases:clues from molecular evolution and *in vitro* mutagenesis[J]. Progress in Biophysics & Molecular Biology,1999,72(1):19-66.

[10]张坤生,田荟琳. 过氧化氢酶的功能及研究[J]. 食品科技, 2007,32(1):8-11.

[11]Cicek E, Yildiz M, Delibas N, et al. The effects of Tl-201 myocardial perfusion scintigraphy studies on oxidative damage in patients[J]. West Indian Medical Journal,2009,58(1):50-53.

[12]董 亮,何永志,王远亮,等. 超氧化物歧化酶(SOD)的应用研究进展[J]. 中国农业科技导报,2013,15(5):53-58.

[13]Esterbauer H, Schaur R J, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes[J]. Free Radical Biology & Medicine,1991,11(1):81.

[14]刘伟桥,于 澎. 中药黄酮类化合物的抗肿瘤机制[J]. 长春中医药大学学报,2015,31(2):254-255.

[15]刘一杰,薛永常. 植物黄酮类化合物的研究进展[J]. 中国生物工程杂志,2016,36(9):81-86.

[16]Lala P K, Chakraborty C. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression[J]. Lancet Oncology,2001,2(3):149-156.

[17]Murakami A. Chemo prevention with phytochemicals targeting inducible nitric oxide synthase[J]. Forum of Nutrition,2009,61:193-203.

[18]Ng Q S, Goh V, Milner J, et al. Effect of nitric-oxide synthesis on tumour blood volume and vascular activity: a phase study [J]. Lancet Oncology,2007,8(2):111-118.

[19]狄建彬,顾振纶,赵笑东,等. 姜黄素的抗氧化和抗炎作用研究进展[J]. 中草药,2010,41(5):854-857.

[20]刘仰斌,张志花. 鸡血藤提取物对酒精性肝病大鼠的保护作用[J]. 牡丹江医学院学报,2016,37(5):12-14.

[21]Sacks S, Karegli J, Farrar C A, et al. Targeting complement at the time of transplantation[J]. Advances in Experimental Medicine and Biology,2013,735:247-255.

[22]张建军,高 缘,孙婉瑾. 白蛋白作为药物载体的研究[J]. 化学进展,2011,23(8):1747-1754.