

石 浩, 蒋飞勇, 何小娥, 等. 黄芩提取物对鱼类水霉病病原菌的抑制机制[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(1): 164–169.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.01.031

黄芩提取物对鱼类水霉病病原菌的抑制机制

石 浩, 蒋飞勇, 何小娥, 王文龙

(湖南应用技术学院农林科技学院, 湖南常德 415000)

摘要:探讨黄芩提取物对鱼类水霉病病原菌的抑制机制, 以促进水霉菌植物源抑菌剂产品的研发利用。以中药黄芩为试验试材, 检测水霉菌孢子形成、孢子萌发、菌丝生长量、菌丝总糖含量、菌丝蛋白质含量、氨基酸含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性及过氧化氢酶(CAT)活性等指标, 初步确定黄芩提取物对鱼类水霉病病原菌的抑制机制。结果表明, 黄芩提取物对水霉菌孢子具有较强的抑制作用, 在质量浓度为 300~500 mg/L 时水霉菌孢子萌发抑制率高达 90% 以上; 黄芩提取物对水霉菌的菌丝生长具有较好的抑制作用; 当质量浓度在 400~500 mg/L 时抑制率达到了 85% 以上; 黄芩提取物对水霉菌丝总糖含量、蛋白质含量、氨基酸的含量存在一定影响, 随处理质量浓度增加, 影响效果逐渐增强, 当处理质量浓度达 1 000 mg/L 时, 相对于对照组各指标减少量均达 5% 以上。黄芩提取物质量浓度在 100~500 mg/L 时, SOD、CAT 活性明显下降, 相对于对照组 500 mg/L 时分别下降 57.75%、89.90%, 说明提取物可破坏菌丝体内抗氧化酶的活性, 从而加快菌体的衰老而死亡。通过研究黄芩提取物对鱼类水霉病病原菌的抑制机制, 以期相应渔药产品的开发提供方向。

关键词:水霉病; 病原菌; 黄芩提取物; 鱼类; 抑菌机制

中图分类号: S941.43⁺1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)01-0164-05

水霉是水霉属的真菌之一, 可感染淡水鱼及鱼卵, 这些感染通常被称为“水霉病”, 水霉病是水产养殖中最常出现的真菌性寄生疾病, 别称肤霉病、白毛病、覆棉病或水棉病等^[1]。水霉孢子感染受伤鱼体的皮肤或鱼卵容易引起水霉病, 因淡水鱼易感染水霉病, 给渔业生产造成了巨大的经济损失^[2]。而在渔业上用来防治水霉病的化学药物具有广谱抗菌、使用便捷、见效快等特点, 但化学药物又有其自身的缺点, 包括致癌症、致畸形、致突变、高毒副作用、高残留及极易产生抗药性等问题^[3]。中草药在防治水产养殖动物病害中的应用也早有研究, 1990 年童裳亮研究了 5 种野生的植物提取液对鱼病毒效应及抗鱼病菌的效果^[4]; 汪晓娟等研究了鱼藤酮、蛇床子素、百部碱、苦楝素及烟碱 5 种植物提取物对水霉菌的抑制作用, 发现这些植物提取物对

水霉菌均有抑制作用, 且抑制效果从强至弱表现为烟碱 < 蛇床子素 < 百部碱 < 鱼藤酮 < 苦楝素^[5]。目前, 中药资源常被利用为水霉病的防治药剂, 由于中草药中的有些有效成分会以破坏真菌的细胞壁、阻碍真菌的正常合成、影响真菌正常代谢等方式来影响水霉菌的正常生长^[6], 并且中草药具有来源广泛、不易产生耐药性、低残留、低成本等特点^[7]。中药黄芩的药用价值很高^[8], 不管是在医学临床方面还是在植物药方面都有广阔的应用前景。国内外有关的研究报道很多, 例如, 宋丽雅等通过对花椒的抑菌机制研究, 发现花椒提取物通过改变细胞膜的通透性及影响细胞壁来达到抑菌的效果^[9]。云宝仪等研究黄芩素对金黄色葡萄球菌的抑制作用及其抑菌机制发现, 黄芩素使金黄色葡萄球菌的细胞膜渗透性增大^[10]。但关于黄芩提取物对水霉菌的抑制机制还未见相关报道。本研究初步探讨黄芩提取物对鱼类水霉病病原菌的抑制机制, 以期防治鱼类水霉病和水产养殖研发安全、高效、无污染、无残留的绿色药品提供试验依据和理论依据。

1 试验材料与方法

1.1 药品与仪器

1.1.1 主要试验药品 中药黄芩、孢子悬浮液、水

收稿日期: 2018-10-17

基金项目: 湖南省大学生研究性学习和创新性试验计划(编号: 201713809004); 湖南应用技术学院大学生研创项目(编号: 201813809030)。

作者简介: 蒋飞勇(1996—), 男, 湖南永州人, 主要从事水产养殖学。

E-mail: 1451019830@qq.com。

通信作者: 石 浩, 硕士, 讲师, 主要从事植物资源利用与水产养殖学。E-mail: 411863216@qq.com。

霉菌、马铃薯液体培养基、黄芩提取物、无菌生理盐水、葡萄糖、葡萄糖溶液、葡萄糖标准溶液、浓硫酸、草酸、醋酸、蒽酮、pH 值为 7.0 的磷酸缓冲液、石英砂、茆三酮、蛋白质标准溶液、考马斯亮蓝 G-250 试剂、50 mmol/L 磷酸缓冲液、130 mmol/L 甲硫氨酸 (Met 溶液)、氨基酸标准溶液、750 $\mu\text{mol/L}$ NBT 溶液、100 $\mu\text{mol/L}$ 乙二胺四乙酸二钠 (EDTA - Na_2)、20 $\mu\text{mol/L}$ 核黄素、10% H_2SO_4 、0.1 mol/L H_2O_2 、0.1 mol/L KMnO_4 。

1.1.2 主要试验仪器 250H 恒温培养箱,购自金坛国旺实验仪器厂;BA310Digital 数码显微镜,购自麦克奥迪实业集团有限公司;UV5100B 紫外分光光度计,购自上海元析仪器有限公司;L400 离心机,购自金坛国旺实验仪器厂;7230 型分光光度计,购自上海仪田精密仪器有限公司;OK-98-II 恒温水浴锅,购自上海市泰斯特仪器有限公司;YXQ-SL-100S11 高压灭菌锅,购自上海博迅实业有限公司医疗设备厂;QLF-6020 真空冷冻干燥机,购自北京乐普纳科技有限公司;JA2003N 电子天平,购自上海佑科仪器仪表有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 黄芩提取物对水霉菌生长发育影响试验

1.2.1.1 对孢子形成的试验 制备孢子悬浮液 10^5CFU/mL :于 6 孔板加入马铃薯液体培养基 500 μL 和孢子悬浮液 100 μL ;待 10 h 孢子全部萌发后,将黄芩提取物分别按质量浓度 0、10、50、100、300、500 mg/L 制成终体积为 1 mL 总液体;将 6 孔板放入 18 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱培养 3 d,采用血球计数板进行计数。

1.2.1.2 对孢子萌发的试验 制备马铃薯液体培养基;制备孢子悬浮液 10^5CFU/mL ;在 6 孔板中加入马铃薯液体培养基 500 μL 和孢子悬浮液 100 μL ;将提取物分别按质量浓度 0、10、50、100、300、500 mg/L 制成终体积为 1 mL 的总液体;待 10 h 后观察孢子萌发情况,进行计数处理,计算萌发率。

1.2.1.3 对菌丝生长抑制率的试验 黄芩提取物分别按质量浓度为 0、100、200、300、400、500 mg/L 制成 PDA 平板,于超净工作台完成此操作,将直径 0.9 cm 的供试病菌菌饼块置于含药剂的培养基平板中央,每皿 1 块,每处理 3 次重复,放于 18 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 4 d。测量菌落净生长距离,计算菌丝生长抑制率。

菌丝生长抑制率 = (对照菌落净生长距离 - 处理菌落净生长距离) / 对照菌落净生长距离 $\times 100\%$ 。

1.2.1.4 对菌丝生长量的测定 将活化好的水霉菌用无菌生理盐水洗下,过滤掉菌丝,制得孢子悬浮液 (10^5CFU/mL)。马铃薯液体培养基冷却后于无菌条件下采用移液器加入孢子悬浮液 1 mL,18 $^{\circ}\text{C}$ 振荡培养,待菌丝球生长良好时加入提取物,对照组则为不添加组。继续培养 5 d 后,过滤得菌丝体,采用蒸馏水反复冲洗菌丝,将培养基去除干净,在真空冷冻干燥机中冻干至恒质量,精确称取菌丝体的质量。每个处理重复 3 次,试验重复 3 次。

1.2.2 黄芩提取物对水霉菌生理代谢影响试验

1.2.2.1 菌丝总糖含量的测定 (1) 总糖含量的测定采用苯酚试剂法^[11]。葡萄糖的标准曲线制作:取 6 支洁净试管并依次编号,分别依次加入 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 的 100 $\mu\text{g/mL}$ 葡萄糖标准溶液,在各试管中加入 1 mL 6% 苯酚溶液,并立刻在各试管中加入 5.0 mL 浓硫酸,充分摇匀,静置 10 min,各试管补水至 7 mL,在波长 495 nm 下依次测量反应液吸光度,横坐标为标准的葡萄糖质量 $m(\mu\text{g})$ 、纵坐标为吸光度并以绘制葡萄糖标准曲线。按下列数据依次加入各种溶液,得标准曲线: $y = 0.0136x + 0.0718 (r^2 = 0.9936)$ 。

(2) 样品处理与测定。精确称取 0.5 g 水霉菌丝,放于研钵,加入 5 mL 蒸馏水研磨,转入三角瓶,再加水至 50 mL 左右,再用塑料薄膜封好瓶口,在沸水中提取 15 min,水浴冷却至室温,定容至 250 mL 刻度线处,过滤得滤液。各取 1 mL 上清液于 3 支试管中,调零组加 1 mL 蒸馏水,按照标准曲线方法进行加样和显色测定,重复 3 次,取其平均值。

含糖量 = $(m \times V) / (V_s \times m_1 \times 10^6) \times 100\%$ 。

式中: m 表示查标准曲线所得的糖质量, μg ; V 表示总体积, mL; V_s 表示测定时所取体积, mL; m_1 表示样品质量, g。

1.2.2.2 菌丝蛋白质含量的测定 (1) 绘制蛋白标准曲线,采用了考马斯亮蓝法^[12]。取 6 支玻璃试管,采用 1 000 mL 移液管分别量取 100 $\mu\text{g/mL}$ 蛋白质标准溶液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 10 mL 玻璃试管中,在各试管中加蒸馏水补齐至 1.0 mL,然后在每支试管中加入 4 mL 考马斯亮蓝试剂,迅速振荡摇匀,静置 5 min 后在 595 nm 处测定溶液的吸光度 $D_{595\text{nm}}$,以蒸馏水作为空白组。横坐标为牛血清白蛋白含量 $m'(\mu\text{g})$ 、纵坐标为溶液

的吸光度 D , 得出标准曲线: $y = 0.0121x - 0.0052$ ($r^2 = 0.9967$)。

(2) 样品处理与测定。称取菌丝 0.5 g, 加入 pH 值 7.0 磷酸缓冲液 8 mL 和少量石英砂, 充分研磨成匀浆, 加磷酸缓冲液定容至 10 mL, 然后于 4 ℃、10 000 r/min 离心 20 min, 取出上清液并低温保存备用。分别取 0.1 mL 上清液于 3 支试管中, 调零组加 0.1 mL 蒸馏水, 按照标准曲线方法进行加样和显色测定, 重复 3 次, 取其平均值。

样品蛋白质含量 (mg/g) = $(m' \times V) / (V_s \times m_2)$ 。
式中: m' 表示查得的蛋白质质量, $\times 10^{-3}$ mg; V 表示提取液总体积, mL; m_2 表示样品质量, g; V_s 表示测定时取用提取液体积, mL。

1.2.2.3 氨基酸含量的测定 (1) 标准曲线的确定。准确吸取 200 μ g/mL 氨基酸标准溶液 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL (相当于 0、100、200、300、400、500、600 μ g 氨基酸) 放置在 7 支试管中, 将 pH 值为 6 的缓冲溶液稀释至 5.00 mL, 再在其中加入茚三酮水溶液 1 mL, 充分摇匀, 在沸水浴中加热 10 min; 冷却直至室温, 在波长 569 nm 下测定吸光度。采用氨基酸质量 m'' (μ g) 和吸光度制作标准曲线: $y = 0.0012x + 0.0057$ ($r^2 = 0.9940$)。

(2) 样品处理与测定, 采用茚三酮法^[13]。称取菌丝 0.5 g, 加 10% 醋酸 5 mL, 后于研钵中研碎, 采用蒸馏水洗移入 100 mL 容量瓶中, 加水定容, 然后再过滤至三角瓶中, 最后取滤液测定。吸取 1 mL 样品溶液, 调零组加 1 mL 蒸馏水, 按照标准曲线制作的步骤, 在相同的条件下测定吸光度 D 值, 测得的 D 值可以在标准曲线上查到对应的氨基酸质量 (μ g)。

氨基酸含量 (mg/g) = $m'' \times 100 / M_3$ 。

式中: m'' 表示查得的蛋白质质量, $\times 10^{-3}$ mg; M_3 表示菌丝质量 g;

1.2.3 黄芩提取物对水霉菌酶活性影响试验

1.2.3.1 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的测定

(1) 酶液提取。取新鲜水霉菌菌丝 0.2 g 于预冷研钵中, 加 2 mL 预冷的 0.05 mol/L、pH 值 7.8 磷酸缓冲液在冰浴上研磨成浆, 加缓冲液使终体积为 10 mL。于 4 000 r/min 下离心 15 min, 上清液即为酶粗提液。

(2) 显色反应。取 3 支试管编号, 1 号试管为测定管, 另外 2、3 号试管为对照管, 3 支试管分别加入 50 mmol/L 磷酸缓冲液 5.0 mL、130 mmol/L Met 溶液 0.3 mL、750 μ mol/L NBT 溶液 0.3 mL、

100 μ mol/L EDTA - Na₂ 1.0 mL、去离子水 2.0 mL、20 μ mol/L 核黄素 0.3 mL, 其中 1 号样品试管加入 0.3 mL 酶液、另外 2 支对照管加入 0.3 mL 缓冲溶液。混合均匀后将 1 支对照组试管放在暗处, 其他试管放于 4 000 lx 的日光下反应 20 min, 后立刻遮光, 以遮光管为对照调零, 在 560 nm 下测定光的密度。待反应结束后, 以没有照光的对照管作空白, 分别测定其他试管的吸光度。

SOD 总活性 = $(D_i - D_0) \times V / (D_i \times 0.5 \times m \times V_i) = (D_i - D_0) / (D_i \times 0.015 \times m)$;

式中: D_i 表示光照对照管的吸光度; D_0 表示样品管的吸光度; V 表示样品液总体积, mL; m 表示水霉菌菌丝质量, g; V_i 表示测定时样品用量 (0.3 mL)。

1.2.3.2 过氧化氢酶 (CAT) 活性的测定 取 50 mL 三角瓶 4 个 (2 个为测定组, 另 2 个为对照组), 测定瓶加入“1.2.3.1”节酶液 1 mL, 对照加煮死酶液 1 mL, 再加入 2.5 mL 0.1 mol/L H₂O₂, 同时计时于 18 ℃ 恒温水浴中保温 10 min, 立即加入 10% H₂SO₄ 2.5 mL。采用 0.1 mol/L KMnO₄ 标准溶液作滴定, 直到出现粉红色 (且在 30 s 内粉红色不消失) 为终点。酶活性用 1 g 鲜质量菌丝中过氧化氢酶在 1 min 内分解 H₂O₂ 的质量 (mg) 表示:

过氧化氢酶活性 = $(A - B) \times n / (m \times 1.7 \times t)$ 。

式中: A 表示对照 KMnO₄ 滴定的质量, mg; B 表示酶反应后 KMnO₄ 滴定的质量, mg; m 表示水霉菌菌丝质量, g; t 表示反应时间; “1.7”表示 1 mol/L KMnO₄ 相当于 1.7 mg H₂O₂; n 表示酶液稀释倍数。

1.2.4 统计分析 采用 WPS 2018 软件进行图形的制作。采用 statistix 8 软件对试验数据进行统计分析。取 $\alpha = 0.05$ 显著性水平, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 黄芩提取物对水霉菌生长发育的影响

2.1.1 不同质量浓度黄芩提取物对水霉菌孢子的影响 黄芩提取物对水霉菌孢子形成与萌发均具有较强的抑制作用。由表 1 可知, 随黄芩提取物质量浓度的增大, 产生的孢子数逐渐变少, 当黄芩提取物质量浓度达到 300 mg/L 时, 孢子数量仅为 0.10×10^6 个, 质量浓度达 500 mg/L 时, 水霉孢子几乎停止生长。同时, 随黄芩提取物浓度的增加, 对水霉菌孢子萌发的抑制率逐渐增加, 当黄芩提取物质量浓度在 10 ~ 100 mg/L 之间时, 抑制率呈大幅

度上升趋势,但抑制率最高未超过 60%;当提取物质量浓度于 300 ~ 500 mg/mL 时,抑制率高达 90% 以上。由此可知,当提取物质量浓度达到 300 mg/L 及以上时,黄芩对水霉菌的繁殖代谢具有加强的抑制作用。

表 1 不同质量浓度黄芩提取物对水霉菌孢子形成的影响

提取物质量浓度 (mg/L)	产生孢子数 ($\times 10^6$ 个)	孢子萌发抑制率 (%)
0	$2.84 \pm 0.26a$	$0.00 \pm 0.00e$
10	$2.65 \pm 0.53ab$	$9.86 \pm 0.50a$
50	$1.92 \pm 0.08b$	$28.02 \pm 1.12b$
100	$1.15 \pm 0.1c$	$53.25 \pm 5.44c$
300	$0.10 \pm 0.05d$	$92.4 \pm 6.54d$
500	$0.01 \pm 0.03e$	$94.11 \pm 4.76d$

2.1.2 不同质量浓度黄芩提取物对菌丝生长的影响 黄芩提取物对水霉菌菌丝的生长具有较强的抑制作用。由表 2 可知,随着黄芩提取物质量浓度的增大,对水霉菌菌丝生长的抑制率逐渐增强,当黄芩提取物质量浓度达到 300 mg/L 时,抑制率达到 65% 以上;当黄芩提取物质量浓度达到 400 mg/L 时,抑制率达到 85% 以上。试剂空白对照组菌丝的生长量达 15 mg 左右;当黄芩提取物质量浓度为 100 mg/L 时菌丝生长量为 12.32 mg;当提取物质量浓度达 400 mg/L 时,菌丝生长量为 2.07 mg;当黄芩提取物质量浓度达至 500 mg/L 时,菌丝生长量接近 1.50 mg,说明当黄芩提取物质量浓度在 500 mg/L 时对水霉菌的生长具有非常的大抑制效果。

表 2 不同质量浓度黄芩提取物处理对水霉菌生长的影响

提取物质量浓度 (mg/L)	菌丝生长抑制率 (%)	菌丝生长量 (mg)
0	$0.00 \pm 0.00e$	$14.77 \pm 1.01a$
100	$11.12 \pm 0.77a$	$12.32 \pm 1.2b$
200	$30.05 \pm 1.65b$	$9.43 \pm 0.77c$
300	$68.92 \pm 4.11d$	$5.22 \pm 0.06d$
400	$85.6 \pm 3.55d$	$2.07 \pm 0.15e$
500	$88.51 \pm 4.50d$	$1.45 \pm 0.19e$

2.2 黄芩提取物对水霉菌生理代谢的影响

2.2.1 不同浓度黄芩提取物对菌丝总糖含量的影响 由图 1 可知,随着黄芩提取物质量浓度的增大,水霉菌菌丝总糖含量在逐步下降。当黄芩提取物质量浓度为 0 mg/L 时,菌丝总糖含量占 8% 左右,当黄芩提取物质量浓度在 100 ~ 1 000 mg/L 时,菌丝总糖含量在逐步下降,但是菌丝总糖含量下降最多也仅为 1.5% 左右,说明黄芩提取物对水霉菌丝总糖含量的影响效果不明显。这可能是由于提取

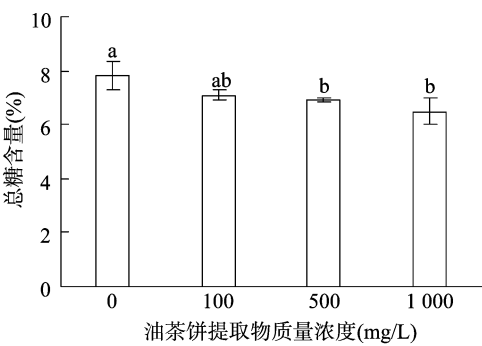


图1 不同浓度黄芩提取物处理对水霉菌总糖含量的影响

物在破坏菌丝细胞结构,影响菌丝的生长代谢,将多糖分解为小分子糖,但其体内总糖含量的减小量并不大。

2.2.2 不同浓度黄芩提取物对菌丝蛋白质含量的影响 由图 2 可知,随着黄芩提取物质量浓度的增大,水霉菌菌丝蛋白质含量在逐步下降。黄芩提取物质量浓度为 0 时,菌丝蛋白质含量是 60.31 mg/g;当质量浓度为 100 mg/L 时,菌丝蛋白质含量下降至 58.21 mg/g;当质量浓度上升至 1 000 mg/L 时,菌丝蛋白质含量仍在 55.67 mg/g。可见黄芩提取物对水霉菌丝蛋白质含量的影响虽有一定减小的趋势,但不显著($P > 0.05$)。说明在高质量浓度时菌丝生长代谢受到了较大的抑制,蛋白质形成的更新量已逐渐减少或趋近为 0。

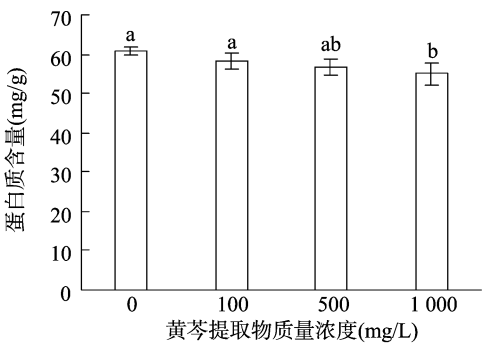


图2 不同质量浓度黄芩提取物处理对水霉菌蛋白质含量的影响

2.2.3 不同质量浓度黄芩提取物对菌丝氨基酸含量的影响 由图 3 可知,随着黄芩提取物质量浓度的增大,水霉菌菌丝氨基酸含量呈递减趋势,递减幅度在高质量浓度处理时较大。黄芩提取物质量浓度为 0 时,菌丝蛋白质含量是 38.32 mg/g;当黄芩提取物质量浓度在 0 ~ 100 mg/L 之间时,氨基酸含量下降显著($P < 0.05$),100 mg/L 时氨基酸含量下降至 32.38 mg/g,说明黄芩提取物对菌丝氨基酸的形成具有较明显的抑制效果;当质量浓度为

1 000 mg/L 时菌丝氨基酸含量下降至 27.04 mg/g, 其菌丝氨基酸含量的变化结果与蛋白质含量相一致。

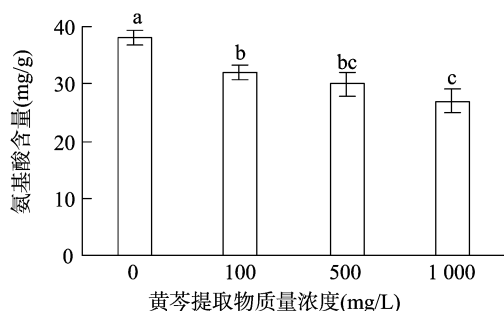


图3 不同质量浓度黄芩提取物处理对水霉菌菌丝氨基酸含量的影响

2.3 黄芩提取物对水霉菌酶活性的影响

2.3.1 不同质量浓度黄芩提取物对 SOD 活性的影响 由图 4 可知,随着黄芩提取物质量浓度的增大,水霉菌菌丝 SOD 活性呈递减趋势。当没有添加黄芩提取物时,由图 4 可知,是 275 U/g;但当黄芩提取物质量浓度在 100 mg/L 时,SOD 活性有下降但幅度不是很大,说明黄芩提取物在这个质量浓度范围对菌丝 SOD 活性的抑制作用不明显。但当黄芩提取物质量浓度在 500 mg/L 时;SOD 活性显著下降 ($P < 0.5$),说明黄芩提取物在这个质量浓度时对菌丝 SOD 活性的抑制作用强,对菌生长代谢的影响大。

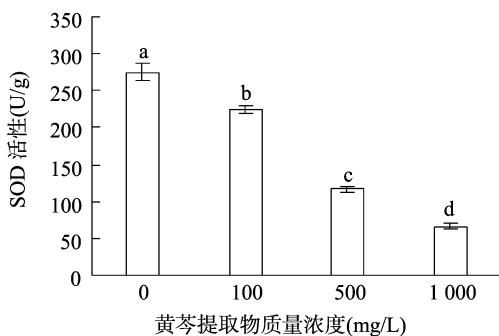


图4 不同质量浓度黄芩提取物处理对 SOD 活性的影响

2.3.2 不同质量浓度黄芩提取物对 CAT 活性的影响 由图 5 可知,随着黄芩提取物质量浓度的增大,水霉菌菌丝 CAT 活性同样呈递减趋势。由图 5 可知,当黄芩提取物质量浓度在 0 ~ 500 mg/L 之间时,CAT 活性下降显著 ($P < 0.05$),说明黄芩提取物质量浓度在 500 mg/L 时对菌丝 CAT 活性的抑制作用强。当黄芩提取物质量浓度为 1 000 mg/L 时,CAT 活性下降不明显且较为缓慢,说明菌丝体 CAT 活性于 500 mg/L 时,几乎受到了最大限度的抑制,因此随着后期处理质量浓度的进一步提高,菌丝酶

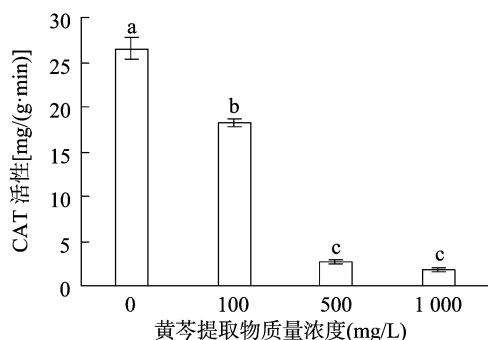


图5 不同质量浓度黄芩提取物处理对 CAT 活性的影响

活减少量非常少。

3 讨论

为初步研究黄芩提取物对水霉菌抑制机制,本试验从水霉菌的繁殖、生长、理化、酶活性质等方面进行分析测定,当提取物质量浓度达到 300 ~ 500 mg/L 时,孢子的形成量非常少,仅在 $0.01 \times 10^6 \sim 0.10 \times 10^6$ 个之间,同时孢子萌发抑制率更是达到了 90% 以上,这可能是提取物破坏了菌丝的生殖代谢,菌丝孢子不能够正常形成或形成不具有活性的孢子^[14-15]。对菌体分别采用 PDA 液体、固体培养基的培养,当提取物质量浓度达到 400 ~ 500 mg/L 时,菌丝生长抑制率达到 85% 以上,菌丝生长量仅为 1.5 mg 左右,相对于空白组 (14.77 mg) 减少了约 90%,这可能由于提取物迫害菌丝的正常生长代谢、阻碍了菌丝细胞的分裂与分化,从而有效地抑制菌丝生长^[16]。糖、蛋白质、氨基酸是菌丝生长的主要代谢物之一,当菌丝停止生长或生长受到抑制时这些指标含量均会有所下降,通过试验分析可知,当黄芩处理质量浓度在 1 000 mg/L 时,三者含量均有一定程度的下降,且下降量均达到了 5% 以上,说明提取物可有效阻碍菌丝的糖代谢和蛋白代谢,从而影响菌丝的生长,直至死亡。菌丝体内酶活性的强弱同样是衡量菌体生长代谢强弱的主要指标之一,通过研究发现当采用 1 000 mg/L 提取物处理时,氧自由基和过氧化氢自由基清除酶的活性菌均有很大幅度提高,分别达到 60%、80% 左右,说明此时菌体自由基的清除能力非常差,菌体正加速衰老和死亡。通过抑菌机制研究分析测定可有效判定菌死亡的原因,可为相类似绿色抑菌产品的开发奠定基础。本研究抑菌机制指标较少,后期可进一步从菌丝细胞结构、关键基因表达与代谢进行分析,以期更全面地探索抑菌机制。

赵洪文,杨鹏波,涂永强,等. 拉日玛牦牛屠宰性能分析[J]. 江苏农业科学,2020,48(1):169-172.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.01.032

拉日玛牦牛屠宰性能分析

赵洪文¹, 杨鹏波², 涂永强², 官久强¹, 毛进彬², 阿农呷², 庞宗梅³, 董文芬³, 罗晓林¹

(1. 四川省草原科学研究院, 四川成都 611731; 2. 四川省甘孜州畜牧工作站, 四川康定 626000;

3. 四川省盐源县农业农村局, 四川盐源 615700)

摘要: 为了解甘孜州新龙县拉日玛牦牛地方类群的遗传资源特性, 试验采用屠宰及相关性能指标测定方法, 对拉日玛牦牛各组织、器官及生产性状指标进行系统测定。结果表明, 拉日玛牦牛的宰前质量、头质量、心脏质量、肝脏质量、肺脏质量、瘤胃质量、网胃质量、胴体长、胴体质量、眼肌面积等指标大于母牦牛, 具有显著性差异 ($P < 0.05$); 公牦牛的蹄质量、净骨质量大于母牦牛, 并具有极显著性差异 ($P < 0.01$); 其他各指标均无明显差异。说明拉日玛牦牛是属于生长发育及产肉性能良好的优质地方遗传资源。

关键词: 拉日玛牦牛; 遗传资源; 屠宰; 宰前质量; 产肉性能

中图分类号: S823.8⁺5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)01-0169-04

牦牛 (*Bos grunniens*) 主要分布在我国青藏高原及其毗邻高寒草原牧区, 为广大牧民百姓提供肉、乳和毛绒等畜产品及重要的食品加工原材料, 在牧区具有不可替代的生态及经济地位^[1]。牦牛是我国主要牛种之一, 仅次于黄牛、水牛居于第 3 位, 我

国现有牦牛量为全球 1 400 多万头中的 92%, 在青海、西藏、四川、甘肃、新疆、云南等省区均有分布^[2-3]。牦牛肉是牦牛生产中最主要的产品, 在藏区有不可替代的经济作用, 也是调节藏区畜牧业生产的重要环节之一。牦牛肉不仅具有蛋白质含量高 (20% ~ 23%)、脂肪含量低 (5% 左右), 还有丰富的 Zn、Fe、Mn、Cu、Mg、Co、Ca 等矿物元素和高含量氨基酸等优良特性, 成为许多消费者青睐的特色有机产品^[4]。李升升等对青海环湖牦牛的屠宰性能进行研究, 同时与西藏斯布牦牛进行了对比分析, 结果表明环湖牦牛屠宰率为 58.47%, 净肉率为

收稿日期: 2018-11-23

基金项目: 肉类加工四川省重点实验室开放基金 (编号: 17-R-02)。

作者简介: 赵洪文 (1986—), 男, 藏族, 青海海东人, 硕士, 助理研究员, 研究方向为畜牧生态。E-mail: swun-zhw@163.com。

通信作者: 罗晓林, 博士, 研究员, 研究方向为牦牛遗传育种与繁殖。

E-mail: luoxl2004@sina.com。

参考文献:

- [1] 钟复坤, 谢海波, 王玉群. 水产动物常见真菌病的防治[J]. 科学养鱼, 2011(12): 79.
- [2] 何平, 王咏星. 水霉病原菌拮抗放线菌的分离与筛选[C]//第九届全国微生物学青年学者学术研讨会论文集, 2012.
- [3] 高鹏. 孔雀石绿替代药物的筛选及其对水霉病的防治效果研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2008.
- [4] 童棠亮. 五种植物提取液的抗水霉菌和抗病毒效应[J]. 中国海洋大学学报 (自然科学版), 1990(2): 53-60.
- [5] 汪晓娟, 胡青, 林岗. 百部碱等 5 种植物提取物对水霉菌的抑制作用[J]. 安徽农学通报, 2012, 18(23): 38-42.
- [6] 高文清, 李东霞. 中草药抗真菌作用的研究近况[J]. 医学综述, 2009, 15(6): 915-918.
- [7] 宋理平, 张宇峰, 闫大伟. 中草药作为免疫增强剂在水产动物上的应用[J]. 饲料工业, 2005, 26(6): 10-12.
- [8] 李晨睿, 牛银波, 潘亚磊, 等. 黄芩药动学研究进展[J]. 中国药

理学通报, 2013, 29(8): 1048-1053.

- [9] 宋丽雅, 倪正, 樊琳娜, 等. 花椒抑菌成分提取方法及抑菌机理研究[J]. 中国食品学报, 2016, 16(3): 125-130.
- [10] 云宝仪, 周磊, 谢鲲鹏, 等. 黄芩素抑菌活性及其机制的初步研究[J]. 药理学, 2012(12): 1587-1592.
- [11] 丰朝霞, 张鸿. 分光光度法测定茯苓中多糖总糖含量[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(2): 17-18.
- [12] 李娟, 张耀庭, 曾伟, 等. 应用考马斯亮蓝法测定总蛋白含量[J]. 中国生物制品学杂志, 2000, 13(2): 118-120.
- [13] 曾俊, 苏俊黎. 一种比较实用的氨基酸定量测定方法——茚三酮法[J]. 饲料工业, 2003, 24(10): 42-43.
- [14] 甄珍, 王获, 范兆廷, 等. 抑制山女鳟源水霉菌菌丝及游动孢子生长的药物筛选[J]. 中国农学通报, 2014, 30(35): 116-120.
- [15] 王小玲, 郁建平, 范家佑. 血根碱抗水霉菌体外活性研究[J]. 山地农业生物学报, 2012, 31(5): 450-453.
- [16] 蒯凌云, 袁雪梅, 潘晓艺, 等. 4 种中草药提取物对水霉的体外抑菌试验[J]. 安徽农学通报, 2015(2): 11-12, 39.