

邓平,张立强,艾桃山,等. 3 种中草药对克氏原螯虾肝胰腺抗氧化系统及组织结构的影响[J]. 江苏农业科学,2020,48(2):183-187.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.02.033

## 3 种中草药对克氏原螯虾肝胰腺抗氧化系统及组织结构的影响

邓平<sup>1,2</sup>, 张立强<sup>1,2</sup>, 艾桃山<sup>1,2</sup>, 喻运珍<sup>1,2</sup>, 余少梅<sup>2</sup>, 罗杨志<sup>2</sup>, 郑青<sup>2</sup>

(1. 武汉市农业科学院,湖北武汉 430207; 2. 武汉中博水产生物技术有限公司,湖北武汉 430070)

**摘要:**以平均体质量为 $(6.45 \pm 0.14)$  g 克氏原螯虾为研究对象,分别投喂含 1% 姜黄素、肝胆利康散、穿梅三黄散的配合饲料,饲养 42 d 后检测并比较不同中草药对克氏原螯虾肝胰腺抗氧化应激指标和组织结构的影响。结果表明,3 种中草药均显著提高了克氏原螯虾肝胰腺 SOD 和 CAT 活性,其中姜黄素对 CAT 活性的促进作用更显著;3 种中草药均明显降低了肝胰腺的 MDA 含量,但对 GSH-Px 活性无显著影响。组织学观察发现 3 种中草药对克氏原螯虾肝胰腺未造成明显损失。由此可见,饲料中添加 1% 剂量的 3 种中草药可明显增强克氏原螯虾肝胰腺的抗氧化能力,且安全可靠。

**关键词:**克氏原螯虾;肝胰腺;抗氧化;组织结构;中草药

**中图分类号:** S942.1;S942.2<sup>+</sup>6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)02-0183-05

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*),俗称小龙虾,是中国淡水虾类中的重要资源<sup>[1]</sup>。其肉味鲜美、营养丰富,深受广大消费者喜爱,成为国内广泛养殖的一种重要经济水生动物<sup>[2]</sup>。随着克氏原螯虾集约化养殖规模的扩大,病害问题日趋严重<sup>[3]</sup>,而抗生素等化学药物的滥用不仅会造成致病菌多重抗

药性,还会引发药物残留等问题,危害环境和食品安全。因此,寻求绿色环保、安全高效的免疫强剂对克氏原螯虾养殖产业的可持续发展具有重要意义。

目前,有关中草药促进甲壳动物非特异免疫功能的报道已见于克氏原螯虾<sup>[4]</sup>、凡纳滨对虾<sup>[5-6]</sup>、罗氏沼虾<sup>[7]</sup>、斑节对虾<sup>[8]</sup>、中华绒螯蟹<sup>[9]</sup>等。姜黄素、肝胆利康散和穿梅三黄散具有保肝护肝作用,姜黄素和肝胆利康散还能提高水产养殖动物肝胰脏的抗氧化能力<sup>[10-12]</sup>,而 3 种中草药对克氏原螯虾的肝胰腺是否具有保护作用还未见报道。本试验通过连续投喂 3 种中草药制剂姜黄素、肝胆利康散、穿梅

收稿日期:2018-10-31

基金项目:湖北省重大科技创新项目(编号:2018ABA103);武汉市农业科学院创新项目(编号:CX201810)。

作者简介:邓平(1979—),女,湖北枝江人,博士,工程师,主要从事水产养殖生态学研究。E-mail:sssd@126.com。

通信作者:张立强,博士,高级工程师,主要从事鱼类病害研究。E-mail:280585404@qq.com。

level and stocking density effects on growth, feed utilization, physiology, and innate immunity of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. Journal of Applied Aquaculture, 2014, 26(4): 340-355.

[7] Carpenter K E, Fast A W, Corre V L, et al. The effects of water depth and circulation on the water quality and production of *Penaeus monodon* in earthen ponds[R]. 1988; 21-24.

[8] Green B. Effect of mechanical pond circulation on dissolved oxygen and temperatures profiles in channel catfish ponds[M]//Aquaculture America Book of Abstracts, U S Department of Agriculture, Washington, 2006; 116.

[9] Sipaúba - Tavares L H, Donadon A R V, Milan R N. Water quality and plankton populations in an earthen polyculture pond [J]. Brazilian Journal of Biology, 2011, 71(4): 845-855.

[10] Kurt D C, Stewart A. R. Plankton communities and summertime

declines in algal abundance associated with low dissolved oxygen in the Tualatin River, Oregon [R]. Reston, Virginia, America. U S Geological Survey, 2013; 2-5.

[11] Gilbert J J, Hampton S E. Diel vertical migrations of zooplankton in a shallow, fishless pond: a possible avoidance-response cascade induced by notonectids [J]. Freshwater Biology, 2001, 46(5): 611-621.

[12] Kyewalyanga M, Mwanya A W. Influence of environmental variables on planktonic and phytobenthic communities in earthen ponds at Makoba, Zanzibar [J]. Western Indian Ocean Journal of Marine Science, 2004, 3(2): 123-133.

[13] Jana B, De U K, Das R N. Environmental factors affecting the seasonal changes of net plankton in two tropical fish ponds in India [J]. Schweizerische Zeitschrift Für Hydrologie, 1980, 42(2): 225-246.

三黄散 42 d, 研究克氏原螯虾肝胰腺抗氧化应激指标[包括超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH - Px)活性、丙二醛(MDA)含量]的变化及对肝胰腺组织结构的影响, 探讨中草药的作用机理, 为中草药在克氏原螯虾饲料中的合理应用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验饲料的制备

本试验选取姜黄素、肝胆利康散(武汉中博水产生物技术有限公司提供成品, 主要有茵陈、大黄、郁金、连翘、柴胡)、穿梅三黄散(武汉中博水产生物技术有限公司提供成品, 主要有大黄、黄芩、黄柏、穿心莲、乌梅)为试验原料, 按 1% 比例加入饲料, 搅拌加水混匀, 4℃ 冰箱保存备用。饲料的主要营养成分包括粗蛋白 28.0%、粗脂肪 4.0%、粗纤维 10.0%、粗灰分 12.0%、水分 13.0%、钙 0.6%、磷 0.9%。

### 1.2 试验虾的饲养与管理

试验虾取自武汉市农业科学院水产研究所山坡基地养殖场, 在武汉中博水产生物技术有限公司养鱼房进行试验。将克氏原螯虾暂养 7 d 后, 分成对照组和 3 个试验组(姜黄素、肝胆利康散、穿梅三黄散), 每组设置 3 个平行, 每组投放 10 尾克氏原螯虾, 养殖在 50 L 水族箱中。水族箱底放置 PVC 管, 供克氏原螯虾蜕皮隐蔽用。每天投喂虾饲料 1 次, 投喂量为虾体质量的 3%~5%, 次日投喂饲料前采用虹吸管吸出残饵与粪便并换水 1/3, 以保证水质清洁。试验周期为 6 周。

### 1.3 肝胰腺免疫酶学指标的测定及切片

分别于养殖 42 d 后从每个平行组随机取 5 尾活体进行解剖, 剖取的肝胰腺组织用生理盐水漂洗后, 一部分置于 -20℃ 冰箱冷冻保存, 肝胰腺中 SOD、CAT、GSH - Px 活性及 MDA、总蛋白(TP)含量均采用相应的试剂盒检测。

另取一部分肝胰腺组织用 4% 中性甲醛固定, 经洗涤、脱水、透明、渗透和包埋后, 切成厚度为 5 μm 的薄片, HE 染色, 再经脱水和透明后用中性树胶封片, 光镜下观察组织学特征。

### 1.4 统计分析

不同中草药对克氏原螯虾肝胰腺免疫酶学指标的影响采用单因素方差分析(A - NOVA)进行分析(SPSS 19.0,  $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 3 种中草药制剂对肝胰腺抗氧化指标的影响

由 3 种中草药对克氏原螯虾肝胰腺 SOD、CAT、GSH - Px 活性和 MDA 含量的影响(图 1)可知, 与对照组相比, 养殖 42 d 各添加组均能显著提高克氏原螯虾肝胰腺 SOD 活性( $P < 0.05$ ), 但各添加组间无显著性差异( $P > 0.05$ )。各添加组克氏原螯虾肝胰腺 CAT 活性均较对照组高( $P < 0.05$ ), 且各添加组间差异显著( $P < 0.05$ ), 姜黄素组克氏原螯虾肝胰腺 CAT 活性最高。各添加组克氏原螯虾肝胰腺的 GSH - Px 活性与对照组之间无明显差异( $P > 0.05$ )。与对照组相比, 3 种中草药均能显著降低克氏原螯虾肝胰腺 MDA 含量( $P < 0.05$ ), 但各添加组间无显著性差异( $P > 0.05$ )。

### 2.2 3 种中草药制剂对肝胰腺组织结构的影响

连续投喂中草药 42 d 后解剖克氏原螯虾的肝胰腺进行 HE 染色, 结果如图 2 所示。与没有投喂中草药的空白对照组相比, 中草药各组的肝胰腺结构基本无损, 肝小体排列整齐, 基膜完整, 肝小管呈星形, 肝小体细胞排列紧凑无散落; 肝小体间隙的血细胞无明显变化(100×)。空白组和 3 种中草药组肝小体细胞层的分泌细胞(B 细胞)和吸收细胞(R 细胞)均完整, R 细胞无明显增多, 部分 B 细胞体积有一定的增大(400×)。组织学观察发现, 克氏原螯虾用 1% 剂量的中草药是安全的, 对肝胰腺组织结构不会产生明显损伤。

## 3 讨论与结论

### 3.1 3 种中草药制剂对肝胰腺抗氧化指标的影响

肝胰腺是甲壳动物最主要的免疫器官, 其 SOD、CAT、GSH - Px 活性及 MDA 含量等与多种生理代谢和免疫反应有关, 能综合反映甲壳动物的抗氧化防御系统功能<sup>[13-14]</sup>。

SOD 和 CAT 是生物体内抗氧化防御功能的关键酶, 它们能有效地清除活性氧自由基, 减少脂质过氧化损伤。关于姜黄素提高水产养殖动物肝胰腺抗氧化能力已有较多报道, 张滕闲等以姜黄素投喂黄颡鱼, 肝胰脏 SOD 和 CAT 活性均显著提高<sup>[15]</sup>; 余少梅等用姜黄素投喂肝损伤的草鱼, 能明显增强草鱼肝脏的 SOD 和 CAT 活性<sup>[12]</sup>。肝胆利康散对水产养殖动物脂肪肝有治疗作用<sup>[11]</sup>, 也有关于提高肝损伤草鱼肝脏 SOD 和 CAT 活性的报道<sup>[12]</sup>。穿梅三

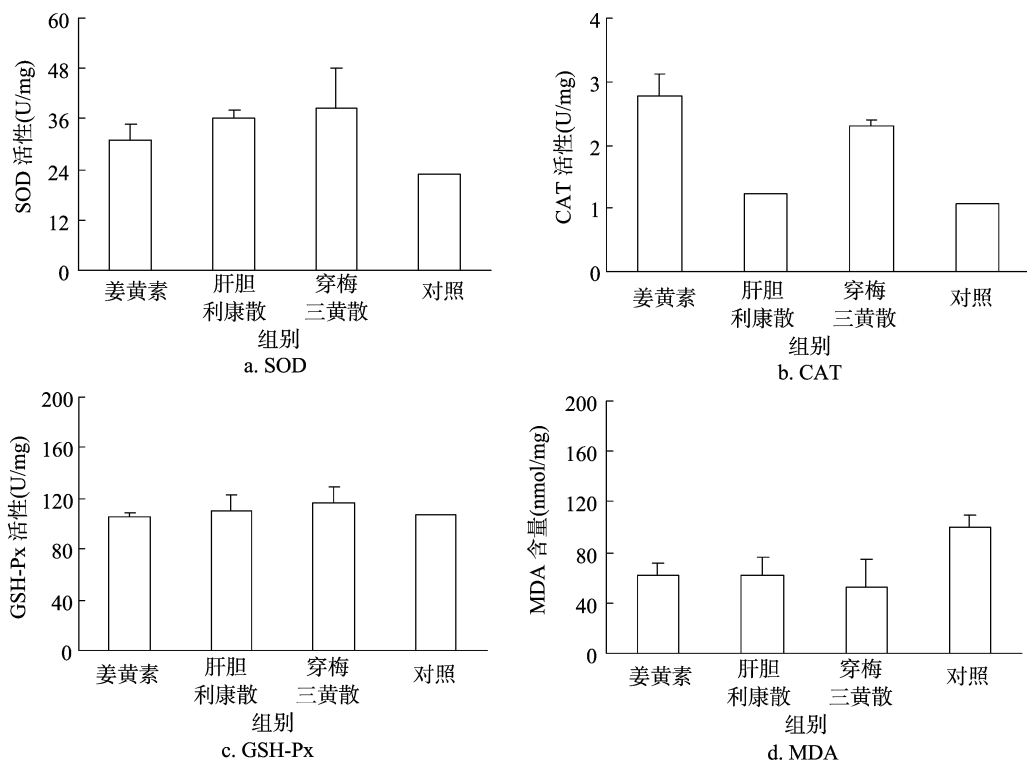


图1 3 种中草药对克氏原螯虾肝胰腺抗氧化指标的影响

黄散具有杀菌和辅助肝损伤修复的作用,其主要成分大黄、黄芪等,能明显促进罗氏沼虾、凡纳滨对虾和克氏原螯虾肝胰腺的 SOD 和 CAT 活性<sup>[14,16-17]</sup>,而复方中草药制剂穿梅三黄散对水产养殖动物非特异性免疫方面的研究还未见报道。本试验中分别以 1% 姜黄素、肝胆利康散、穿梅三黄散饲养克氏原螯虾 42 d,其肝胰腺 SOD 和 CAT 活性均明显升高,其中 3 种中草药添加组 SOD 活性差异不显著,而 3 种中草药对 CAT 活性影响差异显著,以姜黄素对 CAT 活性促进作用更明显。该结果表明,3 种中草药对克氏原螯虾抗氧化系统的 SOD 与 CAT 协同发挥作用,而姜黄素作用于 CAT 的效果更强。

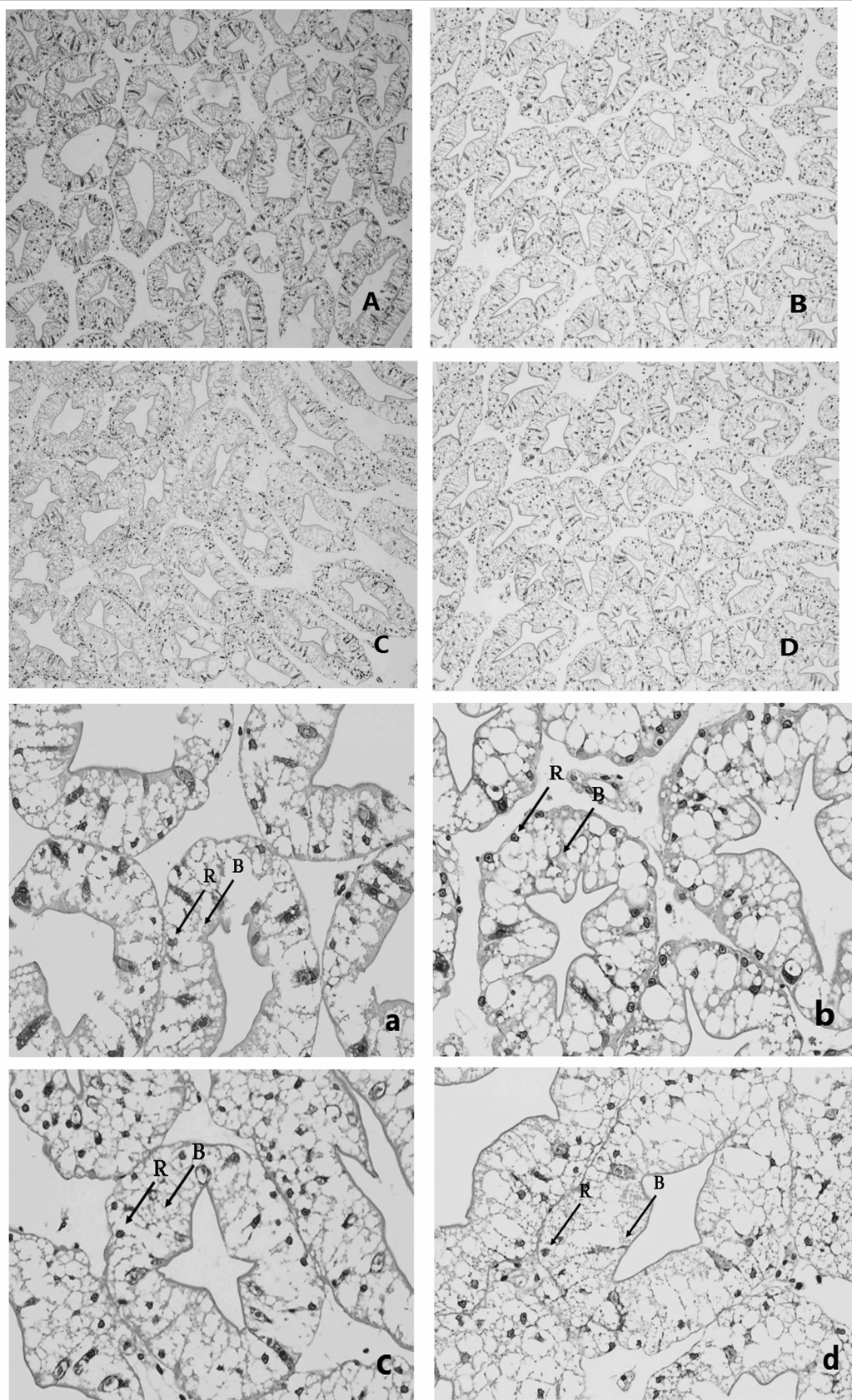
GSH-Px 能帮助机体保持正常的免疫系统功能,并具有抗氧化作用和整合解毒作用。3 种中草药(或主要成分)对水产养殖动物 GSH-Px 活性的影响不尽相同,姜黄素可显著提高肝损伤草鱼、黄颡鱼和奥尼罗非鱼肝胰脏的 GSH-Px 活性,但降低了大菱鲂幼鱼血清中的 GSH-Px 活性<sup>[12,15,18-19]</sup>。肝胆利康散提高了肝损伤草鱼肝胰脏的 GSH-Px 活性<sup>[12]</sup>。大黄素可明显提高克氏原螯虾肝胰腺 GSH-Px 活性<sup>[17]</sup>。本试验中 3 种中草药对克氏原螯虾肝胰腺 GSH-Px 活性无显著激活作用,可能与 3 种中草药对克氏原螯虾抗氧化酶的促进作用和酶

的种类有关。

MDA 是最重要的脂质过氧化产物,它的含量反映了细胞受损伤的程度和脂质过氧化程度,从而间接反映体内活性氧的积累情况<sup>[20]</sup>。本研究中 3 种中草药添加组克氏原螯虾肝胰腺的 MDA 含量明显降低,说明饲喂 3 种中草药的克氏原螯虾机体抗氧化系统在此时能够对生成的氧自由基进行及时清除,脂质过氧化反应的水平较低。这与 3 种中草药(或主要成分)对草鱼、凡纳滨对虾及克氏原螯虾等水产养殖动物的研究结果<sup>[12,16-17]</sup>一致。

### 3.2 3 种中草药制剂对肝胰腺组织结构的影响

克氏原螯虾肝胰腺和其他甲壳动物一样,肝小体是其结构和功能的基本单位<sup>[21]</sup>。肝小体主要由基膜、细胞层和肝小管组成,细胞层中的细胞可分为分泌细胞(B 细胞)、存储细胞(R 细胞)、纤维细胞(F 细胞)和胚细胞(E 细胞),其中 B 细胞和 R 细胞数量较多<sup>[22]</sup>。在本试验采样过程中发现,投喂中草药的克氏原螯虾肝胰腺色泽红润。肝胰腺组织切片 HE 染色后,投喂姜黄素、肝胆利康散、穿梅三黄散的克氏原螯虾肝胰腺组织结构无显著病理变化。卢婉怡也有研究表明,灌喂高剂量的姜黄素未引起奥尼罗非鱼肝胰脏的病理变化<sup>[19]</sup>。姜黄素和肝胆利康散还可改善肝损伤草鱼肝组织的病理变



A~D—姜黄素组、肝胆利康散组、穿梅三黄散组和对照组克氏原螯虾的肝胰腺组织切片(100×)；a~d—姜黄素组、肝胆利康散组、穿梅三黄散组和对照组的肝胰腺组织切片(400×)

图2 3 种中草药对克氏原螯虾肝胰腺组织的影响(HE染色)

化<sup>[12]</sup>,而连续投喂含乌梅的复方中草药对凡纳滨对虾的肝胰腺没有产生损害<sup>[23]</sup>。这说明本试验所用的 3 种中草药对克氏原螯虾肝胰腺组织不会产生明显损伤。

综上所述,在饲料中投喂 3 种中草药均增强了克氏原螯虾肝胰腺抗氧化功能,并且对机体没有损伤,因此具有良好的应用前景。

#### 参考文献:

- [1]徐加涛,阎斌伦,徐国成. 克氏原螯虾产业发展背景、现状与展望[J]. 水产科技情报,2011,38(4):172-176,180.
- [2]农业部渔业政策管理局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社,2018.
- [3]何琦瑶,汪开毓,刘 韬,等. 湖北省潜江地区克氏原螯虾白斑综合征 PCR 诊断及组织病理学观察[J]. 水产学报,2018,42(1):131-140.
- [4]孔舒舒. 加拿大一枝黄花抑菌提取物对克氏原螯虾抗菌性和免疫性的影响[D]. 扬州:扬州大学,2015.
- [5]Lin H Z,Li Z J,Chen Y Q,et al. Effect of dietary traditional Chinese medicines on apparent digestibility coefficients of nutrients for white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone[J]. Aquaculture,2006,253(1/2/3/4):495-501.
- [6]刘 波,冷向军,李小勤,等. 中草药对凡纳滨对虾生长、血淋巴非特异性免疫和肌肉成分的影响[J]. 上海海洋大学学报,2014,23(4):528-534.
- [7]Liu B,Ge X P,He Y H,et al. Effects of anthraquinones extracted from *Rheum officinale* Bail on the growth, non-specific immune response of *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Aquaculture,2010,310(1/2):13-19.
- [8]Balasubramanian G, Sarathi M, Venkatesan C, et al. Oral administration of antiviral plant extract of *Cynodon dactylon* on a large scale production against white spot syndrome virus (WSSV) in *Penaeus monodon*[J]. Aquaculture,2008,279(1/2/3/4):2-5.
- [9]刘丽平,薛 晖,周 刚. 复方中草药对中华绒螯蟹免疫因子的影响[J]. 南京师大学报(自然科学版),2008,31(1):109-113.
- [10]程玉冰,潘庭双,侯冠军,等. 不同中草药添加剂对草鱼生长及肝胆综合症的影响[J]. 安徽农学通报,2008,14(23):146,155.
- [11]杨敬辉,潘 娟,刘占民. 肝胆利康散、L-肉毒碱、胆汁酸对草鱼脂肪肝的治疗作用的比较[J]. 中国兽医杂志,2013,49(1):78-80.
- [12]余少梅,喻运珍,艾桃山,等. 姜黄素对草鱼肝损伤修复作用研究[J]. 中国兽药杂志,2013,47(8):29-31.
- [13]段亚飞,董宏标,王 芸,等. 干露胁迫对日本囊对虾抗氧化酶活性的影响[J]. 南方水产科学,2015,11(4):102-108.
- [14]刘 波,明俊超,谢 骏,等. 大黄蕙醌提取物对罗氏沼虾高温下抗氧化能力与热应激蛋白 70 基因表达的影响[J]. 水产学报,2010,34(6):972-980.
- [15]张滕闲,陈 钱,张宝龙,等. 姜黄素对黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)生长、消化与抗氧化能力的影响[J]. 渔业科技进展,2017,38(6):56-63.
- [16]王 芸,李 健,刘 淇,等. 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[J]. 安徽农业科学,2007,35(26):8236-8239.
- [17]杨维维,沈美芳,刘文斌,等. 大黄素对克氏螯虾生长、免疫、肝脏抗氧化以及肠道消化酶的影响[J]. 江苏农业学报,2013,29(6):1405-1410.
- [18]王雅慧,王裕玉,麦康森,等. 饲料中添加姜黄素对大菱鲆幼鱼生长、体组成及抗氧化酶活力的影响[J]. 水产学报,2016,40(9):1299-1308.
- [19]卢婉怡. 姜黄素的生物学功能及其在奥尼罗非鱼养殖上的应用研究[D]. 广州:华南理工大学,2009.
- [20]徐德立,赵小立,张 铭. 低温胁迫下草鱼 ZC-7901 细胞系内丙二醛含量的变化[J]. 曲阜师范大学学报(自然科学版),2003,29(4):88-90.
- [21]李 霞. 水产动物组织胚胎学[M]. 北京:中国农业出版社,2006:199-200.
- [22]李二超,陈立侨,曾 贇,等. 不同盐度下饵料蛋白质含量对凡纳滨对虾生长、体成分和肝胰腺组织结构的影响[J]. 水产学报,2008,32(3):425-433.
- [23]姜 燕. 凡纳滨对虾急性肝胰腺坏死病防治中草药的筛选[D]. 大连:大连海洋大学,2013:41-42.