

# 长期投喂黄芪多糖对黄颡鱼抗氧化及非特异性免疫指标的影响

白东清 吴旋 郭永军 朱国霞 邢克智\* 宁博

(天津农学院水产科学系,天津市水产生态及养殖重点实验室,国家级实践教学示范中心,天津 300384)

**摘要:** 本文旨在探讨添加不同水平的黄芪多糖(*astragalus polysaccharides*, APS)对黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)抗氧化及非特异性免疫指标的影响。选取2龄健康黄颡鱼540尾,随机分成6组,每组3个重复,每个重复30尾鱼,分别投喂在基础饲料中添加0(对照组)、300、600、900、1 200、1 500 mg/kg黄芪多糖的试验饲料,试验期为8周。于试验结束后测定黄颡鱼体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)与溶菌酶(LSZ)活力,丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)含量,吞噬细胞的吞噬百分比(PP)、吞噬指数(PI)以及疾病抗性等指标。结果表明:与对照组相比,300 mg/kg组头肾中以及600、900 mg/kg组肌肉中SOD活力分别提高1.61、1.95与2.08倍,差异显著( $P < 0.05$ );600~1 500 mg/kg黄芪多糖能显著提高黄颡鱼心脏、肝脏、脾脏、肌肉与鳃中的CAT活力( $P < 0.05$ ),且各添加组的头肾与中肾中CAT活力均显著升高( $P < 0.05$ );300~1 500 mg/kg组肝脏与脾脏中,600~1 500 mg/kg组心脏、头肾、中肾、肌肉与鳃中的MDA含量与对照组相比显著降低( $P < 0.05$ )。各添加组的心脏、肝脏、脾脏与头肾中以及600~1 500 mg/kg组的头肾与中肾中NO含量均显著低于对照组( $P < 0.05$ )。在0~1 200 mg/kg范围内黄芪多糖添加水平与LSZ活力成正比,所有组织内LSZ活力较对照组均有显著性地提高( $P < 0.05$ )。随黄芪多糖添加水平的升高,吞噬百分比与吞噬指数显著升高( $P < 0.05$ )。黄芪多糖可降低迟钝爱德华氏菌攻毒后鱼的死亡率,提高免疫保护率,尤其是1 200、1 500 mg/kg组,免疫保护率均达到50.0%。由此得出,在饲料中添加适宜水平的黄芪多糖可促进黄颡鱼抗氧化功能的提升;饲料中添加黄芪多糖可促进黄颡鱼非特异性免疫功能的提高,且以1 200 mg/kg添加水平的效果最佳。

**关键词:** 黄颡鱼;黄芪多糖;抗氧化指标;非特异性免疫指标

**中图分类号:** S963

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1006-267X(2011)09-1622-09

为适应人们生活水平的不断提高,水产养殖规模呈现逐年扩大的态势,但随之而来却是养殖动物疾病的大规模爆发。中草药及其提取物已经成为了代替抗生素,治疗、预防水产动物疾病的首选药物。黄芪作为一种多年生草本补益类中药,具有味甘、性温,具有补气升阳、固表止汗、托毒排脓和生肌等功效<sup>[1]</sup>。黄芪多糖(*astragalus polysac-*

*charides*, APS)是从黄芪中提取的天然活性成分,具有抗病毒、抗肿瘤、抗氧化、调节机体体液免疫、激活免疫细胞因子等功效<sup>[2]</sup>。目前,黄芪多糖以其显著的免疫增强、抗病毒作用,加之价格低廉、来源丰富、毒性低、无耐药性等<sup>[3]</sup>特性广泛的应用于临床医疗、畜牧及水产动物的养殖中。黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)是一种小型的淡水经济

收稿日期:2011-03-23

基金项目:天津市高等学校科技发展基金计划(2008ZD21和2006ZD24);天津市农业科技成果转化与推广项目(201004040)

作者简介:白东清(1970—),女,河北迁安人,教授,博士,硕士生导师,主要从事水产动物营养与饲料学的教学和研究工作。E-mail: baidongqing@tjau.edu.cn

\* 通讯作者:邢克智,教授,硕士生导师, E-mail: kzxing@yahoo.com.cn

鱼类,具有较高的营养及经济价值,但近年来各种疾病的爆发成为了制约黄颡鱼养殖业高速发展的主要因素。因此,本研究通过在饲料中添加不同水平的黄芪多糖,探讨长期投喂黄芪多糖对黄颡鱼抗氧化及非特异性免疫指标的影响,为黄芪多糖在水产养殖业中的长期应用提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验设计与饲养管理

自天津农学院养殖渔场选取2龄健康黄颡鱼540尾,平均体重( $61.6 \pm 5.4$ )g,平均体长( $19.5 \pm 3.2$ )cm,随机分为6组,每组3个重复,每个重复30尾鱼(雌雄各占1/2)。6组试验鱼分别饲喂在基础饲料中添加0(对照组)、300、600、900、1 200、1 500 mg/kg 黄芪多糖(购于陕西方晟生物科技公司,有效含量>90%)的试验饲料。

试验鱼以重复为单位饲养于架设在养殖池中的规格为1.5 m×1.5 m×1.0 m的18个网箱中。试验期间水温保持在( $26 \pm 2$ )℃,每天连续充氧,试验期间每天换水1/3左右,日投饲率为2%,每日投喂3次,试验期为8周。

### 1.2 样品制备与指标测定

#### 1.2.1 抗凝血及粗酶液的制备

于养殖试验结束后,每组随机抽取黄颡鱼30尾(雌雄各占1/2),使用MS-222对试验鱼实行麻醉。擦拭体表后,使用5 mL一次性无菌注射器进行尾静脉取血,抽血前使用的一次性无菌注射器及离心管预先用1%的肝素钠进行湿润。

抽血后的黄颡鱼在冰浴条件下进行解剖,剥取心脏、肝胰脏、脾脏、头肾、中肾、肌肉与鳃组织,各组织再按质量体积比1:9加入预冷生理盐水,用YQ-3型电动匀浆机在冰浴条件下进行组织匀浆。用Eppendorf冷冻离心机在4℃,3 000 r/min离心20 min,提取上清液即为粗酶液。

#### 1.2.2 抗氧化指标的测定

试验中各组织超氧化物歧化酶(SOD)、氧化氢酶(CAT)活力及丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)及蛋白质含量等指标采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒进行测定。

#### 1.2.3 非特异性免疫指标的测定

##### 1.2.3.1 溶菌酶(LSZ)活力的测定

试验所用溶壁微球菌(*Micrococcus lysodeikticus*)由天津科技大学生物工程学院提供。溶壁微

球菌接种于琼脂培养基上,在37℃条件下培养24 h后,用PBS缓冲液稀释至波长570 nm下吸光度为0.3的菌悬液备用。

表1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
鱼粉 Fish meal	25.0
豆粕 Soybean meal	40.0
面粉 Wheat flour	20.0
麸皮 Wheat bran	11.0
鱼油 Fish oil	1.0
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1.5
磷酸二氢钠 $\text{NaH}_2\text{PO}_4$	0.5
预混料 Premix	1.0
合计 Total	100.0
营养水平 Nutrient levels	
干物质 DM	87.64
粗蛋白质 CP	38.14
粗脂肪 EE	5.08
灰分 Ash	12.37

预混料为每千克饲料提供 Premix provided the following per kg of diet: Fe 150 mg, Zn 30 mg, Mn 13 mg, Cu 3 mg, Co 0.1 mg, I 0.6 mg, Se 0.15 mg, VC 100 mg, VB<sub>1</sub> 3 mg, VB<sub>2</sub> 10 mg, VB<sub>6</sub> 12 mg, 泛酸钙 calcium pantothenate 30 mg, 烟酸 nicotinic acid 30 mg, 生物素 biotin 0.1 mg, 叶酸 folic acid 2 mg, VB<sub>12</sub> 0.01 mg, 肌醇 inositol 400 mg, 胆碱 choline 1 000 mg, VA 2 000 IU, VD<sub>3</sub> 1 000 IU, VE 60 mg, VK 6 mg。

取200 μL菌悬液与20 μL粗酶液在96孔板中混匀,并在酶标仪上使用570 nm的波长测定初始光密度值A<sub>0</sub>,然后置于27℃下水浴30 min,取出后立即置于冰浴中终止反应,并在570 nm波长下测定反应后的光密度值A,LSZ活力=(A<sub>0</sub>-A)/A。

##### 1.2.3.2 吞噬细胞活力的测定

试验所用金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)由天津农学院水产生态及养殖重点实验室提供,使用法国生物梅里埃公司生产的VITEK2-Compact全自动微生物鉴定仪鉴定细菌纯度。将细菌接种于琼脂培养基斜面上,37℃条件下传代2次,用无菌PBS洗下菌落。离心后加入1%福尔马林灭活24 h,将菌液调整为 $1.0 \times 10^8$  cell/mL

备用。

取 100  $\mu\text{L}$  抗凝血,加入 100  $\mu\text{L}$  的金黄色葡萄球菌液,摇匀,在 27  $^{\circ}\text{C}$  条件下孵育 30 min,孵育期间每隔 10 min 摇晃 1 次。用吸管吸取混合液涂片,用甲醇固定 10 min,Giemsa 染色 1 h,水洗晾干后镜检。吞噬细胞活力分别以吞噬百分比(phagocytic percentage, PP)和吞噬指数(phagocytic index, PI)表示:

吞噬百分比(%) = (100 个吞噬细胞中参与吞噬的细胞数/100)  $\times$  100;

吞噬指数(%) = (吞噬细胞内的细菌总数/参与吞噬的吞噬细胞数)  $\times$  100。

### 1.2.3.3 疾病抗性检测

试验用迟钝爱德华氏菌(*Edwardsiella tarda*)由天津市病害防治中心提供。于饲喂试验结束后采用迟钝爱德华氏菌( $2.0 \times 10^8$  cell/mL)对各组试验鱼进行攻毒。每组分别取试验鱼 20 尾(雌雄各占 1/2),经胸鳍基部注射 0.2 mL 迟钝爱德华氏菌悬液。饲养观察 96 h 后,统计各组的死亡率,依下式计算死亡率(mortality rate, MR)与免疫保护率(protective rate, PR)。

死亡率(%) = [(试验初鱼体尾数 - 试验末鱼体尾数)/试验初鱼体尾数]  $\times$  100;  
免疫保护率(%) = (1 - 试验组死亡率/对照组死亡率)  $\times$  100。

### 1.3 数据处理

试验数据用平均值  $\pm$  标准误表示,数据分析采用 SPSS 17.0 软件包中的单因素方差分析(One-way ANOVA)处理,以  $P < 0.05$  作为差异显著性标准。

## 2 结果

### 2.1 黄芪多糖对黄颡鱼各组织中 SOD 活力的影响

黄颡鱼体内各组织中 SOD 活力顺序为心脏 > 肌肉 > 鳃 > 肝脏 > 头肾 > 中肾 > 脾脏(表 2)。添加黄芪多糖对心脏、肝脏、脾脏和鳃中 SOD 活力影响不大( $P > 0.05$ )。与对照组相比,300 mg/kg 组头肾中以及 600、900 mg/kg 组肌肉中 SOD 活力分别提高 1.61、1.95 与 2.08 倍,差异显著( $P < 0.05$ )。

表 2 黄芪多糖对黄颡鱼各组织中 SOD 活力的影响  
Table 2 Effect of APS on the SOD activity in tissues of yellow catfish

组别 Groups	心脏 Heart	肝脏 Liver	脾脏 Spleen	头肾 Head kidney	中肾 Mesonephros	肌肉 Muscle	鳃 Gill
0 mg/kg	96.28 $\pm 37.92^{aA}$	55.03 $\pm 15.35^{aBC}$	29.08 $\pm 17.27^{aC}$	37.35 $\pm 17.08^{bBC}$	41.12 $\pm 18.56^{abBC}$	56.59 $\pm 32.50^{bAB}$	87.20 $\pm 45.95^{abAB}$
300 mg/kg	121.55 $\pm 58.11^{aA}$	58.50 $\pm 17.17^{aC}$	36.24 $\pm 10.98^{aC}$	60.12 $\pm 20.71^{aC}$	50.45 $\pm 21.29^{aC}$	69.85 $\pm 44.55^{bBC}$	104.39 $\pm 45.50^{aAB}$
600 mg/kg	128.70 $\pm 32.68^{aA}$	44.24 $\pm 8.11^{abD}$	39.27 $\pm 11.88^{aD}$	48.59 $\pm 6.25^{abD}$	50.28 $\pm 12.09^{aD}$	110.12 $\pm 11.86^{aB}$	86.68 $\pm 9.56^{abC}$
900 mg/kg	111.32 $\pm 22.94^{aAB}$	49.13 $\pm 10.28^{abC}$	32.25 $\pm 14.31^{aC}$	43.68 $\pm 16.34^{abC}$	45.55 $\pm 8.37^{abC}$	117.83 $\pm 23.56^{aA}$	94.73 $\pm 24.31^{abB}$
1 200 mg/kg	107.73 $\pm 31.63^{aA}$	53.90 $\pm 14.37^{aB}$	32.04 $\pm 2.46^{aB}$	41.65 $\pm 12.29^{bB}$	45.04 $\pm 4.53^{abB}$	96.86 $\pm 39.83^{abA}$	86.29 $\pm 17.31^{abA}$
1 500 mg/kg	93.57 $\pm 24.95^{aA}$	45.87 $\pm 12.49^{aC}$	24.027 $\pm 7.27^{aC}$	37.00 $\pm 8.20^{bC}$	31.61 $\pm 3.97^{bC}$	83.13 $\pm 11.18^{abA}$	59.24 $\pm 10.84^{bB}$

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),同行数据肩标不同大写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。表 3 至表 6 同。

In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ); in the same row, values with different capital letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ). The same as Table 3 to Table 6.

## 2.2 黄芪多糖对黄颡鱼各组织中 CAT 活力的影响

黄颡鱼体内各组织中 CAT 活性顺序为心脏 > 肌肉 > 肝脏 > 鳃 > 头肾 > 中肾 > 脾脏(表

3)。与对照组相比,600 ~ 1 500 mg/kg 黄芪多糖能显著提高黄颡鱼心脏、肝脏、脾脏、肌肉与鳃中的 CAT 活力( $P < 0.05$ ),且各添加组的头肾与中肾中 CAT 活力均显著升高( $P < 0.05$ )。

表 3 黄芪多糖对黄颡鱼各组织中 CAT 活力的影响

Table 3 Effect of APS on the CAT activity in tissues of yellow catfish

U/mg prot

组别 Groups	心脏 Heart	肝脏 Liver	脾脏 Spleen	头肾 Head kidney	中肾 Mesonephros	肌肉 Muscle	鳃 Gill
0 mg/kg	5.27 ±2.00 <sup>dA</sup>	4.23 ±2.11 <sup>cABC</sup>	2.66 ±0.43 <sup>cC</sup>	3.04 ±1.10 <sup>dBC</sup>	2.85 ±0.33 <sup>dBc</sup>	4.20 ±1.32 <sup>cABC</sup>	4.54 ±1.32 <sup>cAB</sup>
300 mg/kg	7.23 ±1.17 <sup>cdA</sup>	6.42 ±1.66 <sup>cABC</sup>	3.40 ±0.96 <sup>cd</sup>	1.98 ±1.47 <sup>cBCD</sup>	4.59 ±1.47 <sup>cCD</sup>	6.54 ±1.59 <sup>cAB</sup>	5.64 ±1.17 <sup>bcABC</sup>
600 mg/kg	11.95 ±4.45 <sup>bcA</sup>	11.11 ±3.59 <sup>bAB</sup>	5.40 ±0.60 <sup>abC</sup>	7.43 ±2.14 <sup>bBC</sup>	7.30 ±1.22 <sup>bBC</sup>	11.18 ±3.73 <sup>bAB</sup>	7.83 ±3.78 <sup>bBC</sup>
900 mg/kg	13.90 ±6.17 <sup>bAB</sup>	16.09 ±2.83 <sup>Aa</sup>	5.80 ±2.61 <sup>aD</sup>	7.98 ±0.97 <sup>abCD</sup>	5.64 ±1.30 <sup>cD</sup>	11.18 ±2.40 <sup>bBC</sup>	7.75 ±1.93 <sup>bcCD</sup>
1 200 mg/kg	19.22 ±6.37 <sup>aA</sup>	18.12 ±1.82 <sup>aA</sup>	5.72 ±1.90 <sup>aD</sup>	9.70 ±2.18 <sup>aCD</sup>	8.93 ±1.79 <sup>aCD</sup>	15.65 ±4.27 <sup>aAB</sup>	12.62 ±3.26 <sup>aBC</sup>
1 500 mg/kg	11.21 ±1.99 <sup>bcA</sup>	11.06 ±2.11 <sup>bA</sup>	3.75 ±1.02 <sup>bcC</sup>	5.25 ±1.45 <sup>cBC</sup>	4.37 ±1.01 <sup>cC</sup>	13.15 ±2.74 <sup>abA</sup>	7.98 ±1.71 <sup>bb</sup>

## 2.3 黄芪多糖对黄颡鱼各组织中 MDA 含量的影响

黄颡鱼体内各组织中 MDA 含量顺序为肌肉 < 肝脏 < 鳃 < 中肾 < 头肾 < 心脏 < 脾脏(表

4)。与对照组相比,300 ~ 1 500 mg/kg 组肝脏与脾脏中,600 ~ 1 500 mg/kg 组心脏、头肾、中肾、肌肉与鳃中的 MDA 含量显著降低( $P < 0.05$ )。

表 4 黄芪多糖对黄颡鱼各组织中 MDA 含量的影响

Table 4 Effect of APS on the MDA content in tissues of yellow catfish

nmol/mg prot

组别 Groups	心脏 Heart	肝脏 Liver	脾脏 Spleen	头肾 Head kidney	中肾 Mesonephros	肌肉 Muscle	鳃 Gill
0 mg/kg	25.97 ±4.63 <sup>aBC</sup>	15.95 ±4.36 <sup>aCd</sup>	50.31 ±5.05 <sup>aA</sup>	31.67 ±20.71 <sup>aB</sup>	23.76 ±5.19 <sup>aBC</sup>	8.55 ±3.00 <sup>aD</sup>	24.37 ±8.51 <sup>aBC</sup>
300 mg/kg	23.63 ±6.91 <sup>Abc</sup>	10.57 ±2.72 <sup>bD</sup>	37.57 ±12.03 <sup>bA</sup>	29.72 ±5.03 <sup>aB</sup>	24.24 ±7.41 <sup>aBC</sup>	7.27 ±3.15 <sup>aD</sup>	20.32 ±6.81 <sup>aC</sup>
600 mg/kg	13.59 ±3.73 <sup>bB</sup>	7.69 ±2.47 <sup>bcCD</sup>	27.03 ±4.56 <sup>cA</sup>	12.01 ±3.28 <sup>bB</sup>	10.51 ±3.03 <sup>bBC</sup>	4.25 ±0.77 <sup>bD</sup>	7.41 ±2.35 <sup>bcD</sup>
900 mg/kg	10.11 ±5.25 <sup>bcB</sup>	4.99 ±1.08 <sup>cdBC</sup>	23.16 ±9.17 <sup>cA</sup>	8.71 ±2.09 <sup>bBC</sup>	7.28 ±0.86 <sup>bBC</sup>	3.55 ±0.55 <sup>bB</sup>	6.23 ±1.91 <sup>bBC</sup>
1 200 mg/kg	9.10 ±2.03 <sup>bcB</sup>	6.29 ±1.83 <sup>cdC</sup>	20.19 ±2.59 <sup>cdA</sup>	9.56 ±2.91 <sup>bB</sup>	8.37 ±1.69 <sup>bBC</sup>	2.92 ±1.00 <sup>bD</sup>	8.10 ±2.21 <sup>bBC</sup>
1 500 mg/kg	6.43 ±1.85 <sup>cB</sup>	4.45 ±1.04 <sup>dC</sup>	12.06 ±1.26 <sup>dA</sup>	6.25 ±1.30 <sup>bB</sup>	6.03 ±0.84 <sup>bB</sup>	2.06 ±0.53 <sup>bD</sup>	4.29 ±1.08 <sup>bcC</sup>

## 2.4 黄芪多糖对黄颡鱼各组织中 NO 含量的影响

黄颡鱼体内各组织中 NO 含量顺序为肌肉 > 心脏 > 肝脏 > 鳃 > 头肾 > 中肾 > 脾脏(表 5)。添加黄芪多糖后,各组织中 NO 含量均低于对照组,

且随着黄芪多糖水平的增加而降低(除 1 500 mg/kg组心脏、头肾中 NO 含量略有上升)。其中,各添加组的心脏、肝脏、脾脏与头肾中以及 600 ~ 1 500 mg/kg 组的头肾与中肾中 NO 含量均显著低于对照组( $P < 0.05$ )。

表 5 黄芪多糖对黄颡鱼各组织中 NO 含量的影响

Table 5 Effect of APS on the NO content in tissues of yellow catfish

nmol/mg prot

组别 Groups	心脏 Heart	肝脏 Liver	脾脏 Spleen	头肾 Head kidney	中肾 Mesonephros	肌肉 Muscle	鳃 Gill
0 mg/kg	32.39 ±5.57 <sup>aAB</sup>	25.32 ±10.69 <sup>aBC</sup>	19.96 ±6.43 <sup>aB</sup>	29.60 ±5.68 <sup>aABC</sup>	15.01 ±7.40 <sup>aC</sup>	41.06 ±19.64 <sup>aA</sup>	31.18 ±10.56 <sup>aAB</sup>
300 mg/kg	28.32 ±8.46 <sup>aA</sup>	17.02 ±6.93 <sup>bBC</sup>	9.54 ±2.81 <sup>bC</sup>	16.10 ±5.73 <sup>bC</sup>	12.22 ±9.93 <sup>aC</sup>	25.62 ±11.50 <sup>aAB</sup>	18.80 ±7.00 <sup>bBC</sup>
600 mg/kg	15.57 ±6.60 <sup>bb</sup>	14.39 ±6.73 <sup>bcBC</sup>	7.42 ±1.77 <sup>bcC</sup>	9.29 ±3.61 <sup>cbC</sup>	8.66 ±5.38 <sup>abBC</sup>	22.44 ±5.96 <sup>bcA</sup>	12.27 ±7.03 <sup>bcBC</sup>
900 mg/kg	8.37 ±3.95 <sup>cbC</sup>	9.15 ±1.12 <sup>cb</sup>	5.21 ±3.02 <sup>cdCD</sup>	5.28 ±3.39 <sup>cdCD</sup>	4.20 ±0.69 <sup>bd</sup>	12.83 ±4.04 <sup>cdA</sup>	6.77 ±1.52 <sup>cdBCD</sup>
1 200 mg/kg	5.85 ±1.67 <sup>cbC</sup>	8.28 ±3.40 <sup>caB</sup>	3.32 ±1.89 <sup>dc</sup>	3.91 ±2.16 <sup>dc</sup>	3.86 ±1.46 <sup>bc</sup>	9.22 ±3.75 <sup>da</sup>	4.97 ±1.28 <sup>cdC</sup>
1 500 mg/kg	8.69 ±3.23 <sup>ca</sup>	7.47 ±3.47 <sup>ca</sup>	2.61 ±1.02 <sup>dc</sup>	4.14 ±1.99 <sup>dbc</sup>	2.17 ±1.69 <sup>bc</sup>	6.76 ±3.14 <sup>daB</sup>	2.63 ±1.06 <sup>dc</sup>

## 2.5 黄芪多糖对黄颡鱼体内组织 LSZ 活力的影响

黄颡鱼体内各组织中 LSZ 活力顺序为头肾 > 中肾 > 心脏 > 脾脏 > 鳃 > 肌肉 > 肝脏(表 6)。各

添加组各组织中 LSZ 活力均高于对照组,且在 0 ~ 1 200 mg/kg 范围内黄芪多糖添加水平与酶活力成正比,所有组织内 LSZ 活力较对照组均有显著性的提高( $P < 0.05$ )。

表 6 黄芪多糖对黄颡鱼各组织中 LSZ 活力的影响

Table 6 Effect of APS on the LSZ activity in tissues of yellow catfish

U/mg prot

组别 Groups	心脏 Heart	肝脏 Liver	脾脏 Spleen	头肾 Head kidney	中肾 Mesonephros	肌肉 Muscle	鳃 Gill
0 mg/kg	35.75 ±9.66 <sup>cb</sup>	7.87 ±1.44 <sup>dd</sup>	22.52 ±5.01 <sup>dCD</sup>	64.32 ±10.65 <sup>ca</sup>	57.91 ±12.65 <sup>ca</sup>	12.27 ±3.21 <sup>dd</sup>	27.82 ±6.76 <sup>cbC</sup>
300 mg/kg	50.31 ±9.20 <sup>caB</sup>	19.44 ±3.98 <sup>cd</sup>	37.78 ±8.62 <sup>cbC</sup>	65.14 ±24.14 <sup>ca</sup>	58.89 ±17.34 <sup>ca</sup>	19.91 ±5.42 <sup>cdD</sup>	32.21 ±6.34 <sup>cbC</sup>
600 mg/kg	70.93 ±17.73 <sup>ba</sup>	25.66 ±7.27 <sup>bcB</sup>	39.00 ±17.06 <sup>cb</sup>	74.31 ±30.34 <sup>bcA</sup>	61.96 ±12.66 <sup>ca</sup>	28.08 ±7.58 <sup>cb</sup>	36.37 ±11.17 <sup>cb</sup>
900 mg/kg	77.51 ±13.07 <sup>abAB</sup>	32.67 ±9.59 <sup>bd</sup>	47.67 ±14.75 <sup>cc</sup>	90.71 ±6.01 <sup>abcA</sup>	74.48 ±13.78 <sup>bcB</sup>	41.14 ±11.91 <sup>bcd</sup>	38.47 ±10.34 <sup>cdC</sup>
1 200 mg/kg	93.16 ±10.29 <sup>aAB</sup>	68.10 ±13.53 <sup>aB</sup>	87.76 ±9.80 <sup>aAB</sup>	122.51 ±66.92 <sup>aA</sup>	102.99 ±28.66 <sup>aAB</sup>	69.91 ±20.14 <sup>aB</sup>	75.40 ±13.47 <sup>aB</sup>
1 500 mg/kg	89.03 ±22.13 <sup>aAB</sup>	33.22 ±11.49 <sup>bd</sup>	66.87 ±7.67 <sup>bBC</sup>	110.99 ±28.75 <sup>abA</sup>	90.98 ±32.83 <sup>abAB</sup>	51.32 ±8.48 <sup>bCD</sup>	55.12 ±15.43 <sup>bCD</sup>

## 2.6 黄芪多糖对黄颡鱼吞噬细胞活力的影响

投喂含不同水平的黄芪多糖饲料8周后,检测黄颡鱼体内吞噬细胞活力发现,各添加组的吞噬百分比与吞噬指数均显著高于对照组( $P < 0.05$ ),且随黄芪多糖添加水平的升高呈增加趋

势,除1 200、1 500 mg/kg组间吞噬百分比无显著差别外( $P > 0.05$ ),其余各组间的吞噬百分比与吞噬指数随黄芪多糖水平增加而显著上升( $P < 0.05$ )(表7)。

表7 黄芪多糖对黄颡鱼吞噬细胞活力的影响

Table 7 Effect of APS on the phagocytic activity of yellow catfish

%

项目 Items	组别 Groups					
	0 mg/kg	300 mg/kg	600 mg/kg	900 mg/kg	1 200 mg/kg	1 500 mg/kg
吞噬百分比 PP	28.26 ± 0.36 <sup>e</sup>	35.68 ± 0.62 <sup>d</sup>	39.24 ± 1.37 <sup>c</sup>	42.40 ± 0.71 <sup>b</sup>	46.43 ± 0.85 <sup>a</sup>	47.95 ± 0.96 <sup>a</sup>
吞噬指数 PI	2.54 ± 0.08 <sup>f</sup>	3.42 ± 0.04 <sup>e</sup>	3.82 ± 0.03 <sup>d</sup>	4.05 ± 0.06 <sup>c</sup>	4.34 ± 0.11 <sup>b</sup>	4.51 ± 0.32 <sup>a</sup>

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ).

## 2.7 攻毒试验结果

黄颡鱼养殖8周后,经迟钝爱德华氏菌活菌攻毒96 h,对照组死亡率为80%,各添加组的死亡率均有所降低,获得了一定的免疫保护率,尤其是

1 200、1 500 mg/kg组,免疫保护率均达到50.0%。此外,试验中黄颡鱼的死亡率与免疫保护率与黄芪多糖添加水平存在一定的剂量关系(表8)。

表8 黄芪多糖对黄颡鱼疾病抗性的影响

Table 8 Effect of APS on disease resistance of yellow catfish

组别 Groups	攻毒鱼数量 No. of challenged fish/尾	死亡鱼数量 No. of dead fish/尾	死亡率 MR/%	免疫保护率 PR/%
0 mg/kg	20	16	80	
300 mg/kg	20	12	60	25.0
600 mg/kg	20	12	60	25.0
900 mg/kg	20	10	50	37.5
1 200 mg/kg	20	8	40	50.0
1 500 mg/kg	20	8	40	50.0

## 3 讨论

### 3.1 黄芪多糖对黄颡鱼抗氧化指标的影响

NO是近年来研究较多的一种免疫与调控因子,其在生物体内具有双向调节作用的理论已经被许多研究相继证实<sup>[4-5]</sup>;SOD与CAT是生物体抗氧化酶系的重要组成酶类,对生物体内活性氧自由基清除起着关键的作用;MDA则是脂质过氧化物反应中的最终产物,可导致机体细胞的损伤。检测这些指标可以综合地判定生物机体的抗氧化与免疫情况。近年来的诸多研究报道均表明,黄芪多糖在促进鱼体抗氧化功能提升方面具有明显的效果。张伟妮等<sup>[6]</sup>研究发现,在罗非鱼

(*Tilapia*)饲料中添加不同剂量的黄芪多糖,可提高鱼体SOD与CAT活力,且添加水平在1 000~2 000 mg/kg时提高作用显著;富丽静等<sup>[7]</sup>研究表明,在饲料中添加0.165、0.660 g/kg的黄芪多糖可显著地提高草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)体内SOD活力;吴旋等<sup>[8]</sup>试验得出,使用黄芪多糖浸泡金丝鱼(*Tanichthys albonubes*)可以显著地提高鱼体内SOD与CAT活力;刘红柏等<sup>[9]</sup>试验证实,对史氏鲟(*Acipenser schrencki* Brandt)灌服不同浓度的黄芪多糖水煎剂,其肝脏与血清中SOD活力较对照组均有所提高,且各浓度组MDA含量显著降低。这充分说明适宜添加水平黄芪多糖可以有效提高鱼体的抗氧化能力。

以上学者的研究结论均可作为本试验的理论

支撑。本试验的结果显示,黄芪多糖添加在饲料中投喂黄颡鱼,鱼体各组织中 SOD 与 CAT 活力均提高,且在心脏与鳃等氧交换密切的组织中 SOD 与 CAT 活力明显地高于脾脏、肾脏等组织。同时,与对照组相比,各添加组肝脏与脾脏中 MDA 含量也得到了显著地降低。在以前的研究中,鲜有关于鱼类肌肉抗氧化酶活力的报道,大多数的研究仅是测定鱼体血清、肝脏等少数组织的抗氧化酶活力。而在研究中发现,黄颡鱼的肌肉组织抗氧化功能较强,且投喂黄芪多糖后效果更佳显著。因此,本研究很好的证实了有些鱼类的肌肉具有较高的抗氧化功效这一理论,在今后的生产实践中具有良好地开发前景及应用空间。

关于中草药多糖对水产动物机体 NO 的调节机制,科研工作者也进行了相应的研究:黄江<sup>[10]</sup>通过试验得到,灌服含黄芪、当归等成分的复方中草药水煎液的史氏鲟血液中 NO 的含量显著降低,黄芪、鱼腥草、甘草复方则可显著降低史氏鲟肝脏内 NO 的含量,而单方贯众、复方四却对史氏鲟血液中 NO 含量具有明显的促进作用;苏岭等<sup>[11]</sup>研究发现,复方甘草与紫草对鲫鱼 (*Carassius auratus*) 脾脏内 NO 含量具有抑制作用,但对肝脏中 NO 含量却具有促进作用;同时,黄芪多糖对脾脏中 NO 的含量也具有促进作用。在本试验中,黄颡鱼肌肉 NO 含量明显高于其他组织,但各组织 NO 含量随着黄芪多糖添加水平的增加而下降。而此结论却与有关黄芪多糖在适宜的添加范围内可促进动物体内 NO 含量提升的研究结论<sup>[6]</sup>不尽相同。因此,综合以上的研究结果得出,黄芪多糖对生物体内 NO 含量的影响与中草药、中草药多糖的种类、剂量、给药时间、生物机体自身等多种因素有关,在生产实践中对上述因素应进行仔细考量。

### 3.2 黄芪多糖对黄颡鱼非特异性免疫指标的影响

非特异性免疫能力有 LSZ 活力、吞噬细胞活性、疾病抗性等多种反应组成,是鱼类抵抗病原入侵,维护机体健康的重要特性。近年来,许多学者就黄芪多糖对水产动物非特异性免疫功能的调节作用进行了大量的研究。胡兵等<sup>[12]</sup>研究发现,添加黄芪多糖能提高异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 体内 LSZ 活力,且 0.05% 的添加水平效果最佳;Yin 等<sup>[13]</sup>使用含 0.5% 黄芪水提物的饲料对鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 进行投喂,结果发现鱼体血

液中 LSZ 活力、吞噬细胞的吞噬活力、疾病抗性与对照组相比均有大幅的提升;孙永新<sup>[14]</sup>发现,饲料中添加黄芪多糖可有效提高刺参 (*Apostichopus japonicus*) 体内 LSZ 活力、吞噬指数与吞噬率,攻毒后试验组的发病率有所降低;László 等<sup>[15]</sup>用含有黄芪水提物的饲料投喂罗非鱼,结果表明鱼体 LSZ 活力显著高于对照,攻毒后的存活率也有所提高。

以上结论与本试验得出黄芪多糖可以有效提高黄颡鱼体内 LSZ 活力,且以鱼类最主要的免疫器官头肾中的酶活力最强,对黄颡鱼的吞噬细胞活性及疾病抗性的提高也有显著的功效,并且存在规律的量效关系的结论相一致,进一步证明了黄芪多糖在促进黄颡鱼非特异性免疫功能方面的良好效果。

## 4 结论

① 本试验中,长期连续投喂适宜水平的黄芪多糖能有效地促进黄颡鱼体内 SOD、CAT 活力,降低 MDA 含量,但对黄颡鱼体内 NO 含量却具有抑制作用。

② 不同添加水平的黄芪多糖对各项抗氧化指标的作用效果存在差异,对 SOD、CAT、MDA 及 NO 指标的最适添加水平分别为 600、1 200、1 500 和 300 mg/kg。

③ 不同添加水平的黄芪多糖可有效地提高黄颡鱼体内 LSZ 活力、吞噬细胞活性与疾病抗性,且作用功效较为规律,综合各项指标判定 1 200 mg/kg 的添加水平对黄颡鱼非特异性免疫功能的促进作用最佳。

### 参考文献:

- [1] 陈国辉,黄文凤. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(17): 1482 - 1485.
- [2] 姚秀娟,王米,江善祥,等. 黄芪多糖药理作用及在动物生产中的应用研究进展[J]. 饲料工业, 2009, 30(18): 1 - 3.
- [3] 张小梅. 黄芪多糖的免疫调节作用及抗肿瘤作用研究进展[J]. 大连大学学报, 2003, 6(24): 101 - 104.
- [4] OELZE M, WARNHOLTZ A, FAULHABER J, et al. NADPH oxidase accounts for enhanced superoxide production and impaired endothelium-dependent smooth muscle relaxation in mice [J]. Arterioscler

- Thromb Vascular Biology, 2006, 26 (8): 1753 - 1759.
- [ 5 ] PACHER P, BECKMAN J S, LIAUDET L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease [ J ]. Physiological Reviews, 2007, 87 (1): 315 - 424.
- [ 6 ] 张伟妮, 林旋, 王寿昆, 等. 黄芪多糖对罗非鱼非特异性免疫和胃肠内分泌功能的影响 [ J ]. 动物营养学报, 2010, 22 (2): 401 - 409.
- [ 7 ] 富丽静, 宋文华, 于翔, 等. 五种植物免疫增强剂对草鱼非特异免疫力的影响 [ J ]. 水产学杂志, 2010, 32 (4): 14 - 17.
- [ 8 ] 吴旋, 白东清, 李玉华, 等. 两种中草药多糖对金丝鱼生化指标的影响 [ J ]. 饲料工业, 2010, 31 (22): 25 - 27.
- [ 9 ] 刘红柏, 卢彤岩, 张春燕, 等. 黄芪对史氏鲟抗氧化能力及免疫力的影响 [ J ]. 大连水产学院学报, 2006, 21 (3): 231 - 235.
- [ 10 ] 黄江. 中草药对史氏鲟主要生理生化功能的影响 [ D ]. 硕士学位论文. 哈尔滨: 东北农业大学, 2009.
- [ 11 ] 苏岭, 刘红柏, 王荻, 等. 四种复方中药和黄芪多糖对鲫鱼生长、组织中 NO 含量与 NOS 活性的影响 [ J ]. 水产学杂志, 2010, 23 (3): 11 - 15.
- [ 12 ] 胡兵, 刘军, 侯永清, 等. 黄芪多糖对异育银鲫非特异性免疫力的影响 [ J ]. 水利渔业, 2008, 28 (3): 108 - 111.
- [ 13 ] YIN G J, ARDO L, THOMPSON K D, et al. Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila* [ J ]. Fish Shellfish Immunology, 2009 (26): 140 - 145.
- [ 14 ] 孙永新. 黄芪多糖促进刺参免疫力及生长性能的研究 [ D ]. 博士学位论文. 大连: 大连理工大学, 2008: 61 - 62.
- [ 15 ] LÁSZLÓ A, YIN G J, XU P, et al. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila* [ J ]. Aquaculture, 2008, 275: 26 - 33.



## Effect of Astragalus Polysaccharides on Antioxidant and Nonspecific Immune Indices of Yellow Catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) over Long-term Feeding

BAI Dongqing WU Xuan GUO Yongjun ZHU Guoxia XING Kezhi\* NING Bo  
(Tianjin Key Laboratory of AQU-ecology and Aquaculture, National Demonstration Center of Teaching Practice, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to investigate the effect of astragalus polysaccharides (APS) on antioxidant and nonspecific immune indices of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). Five hundred and forty 2-year-old and healthy yellow catfish were randomly divided into 6 groups with 3 replicates per group and 30 fish per replicate. Yellow catfish in the 6 groups were fed basal diets with 0 (control group), 300, 600, 900, 1 200 and 1 500 mg/kg APS, respectively. The experiment lasted for 8 weeks. At the end of the experiment, the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and lysozyme (LSZ), the contents of malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO), phagocytic percentage (PP), phagocytic index (PI), and disease resistance indices were determined. The results showed as follows: compared with the control group, the head kidney SOD activity in the 300 mg/kg APS group and the muscle SOD activity in the 600 and 900 mg/kg APS groups were increased by 1.61 ( $P < 0.05$ ), 1.95 ( $P < 0.05$ ) and 2.08 ( $P < 0.05$ ) times, respectively. The CAT activity in heart, liver, spleen, muscle and gill was significantly enhanced when supplemented with 600 to 1 500 mg/kg APS in diets ( $P < 0.05$ ). The CAT activity in head kidney and mesonephros in all APS groups was significantly higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the MDA activity in liver and spleen in the 300 to 1 500 mg/kg APS groups and the MDA activity in heart, head kidney, mesonephros, muscle and gill in the 600 to 1 500 mg/kg APS groups were significantly increased ( $P < 0.05$ ), while the NO content in heart, liver, spleen and head kidney in all groups and the NO content in head kidney and mesonephros in the 600 to 1 500 APS groups were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). When supplemental levels of APS ranged from 0 to 1 200 mg/kg, the LSZ activity was proportional to APS supplemental level, and the LSZ activity in all tissues was significantly higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ). With increasing APS levels, the PP and PI were significantly increased ( $P < 0.05$ ). APS could decrease the mortality rate and enhance the protective rate when fish were over attacked with *Edwardsiella tarda*, and the protective rate in the 1 200 and 1 500 mg/kg APS groups reached 50.0%, respectively. It is suggested that proper amount of APS supplementation in diets can enhance antioxidant of yellow catfish; additionally, 1 200 mg/kg APS supplementation has the greatest effects on enhancing nonspecific immunity function of yellow catfish. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2011, 23(9):1622-1630]

**Key words:** yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*); astragalus polysaccharides; antioxidant indices; non-specific immune indices