

冯淇元, 王荻, 刘红柏. 甘草、茯苓对施氏鲟热应激抗氧化能力的影响[J]. 江西农业大学学报, 2019, 41(1): 138-146.



甘草、茯苓对施氏鲟热应激 抗氧化能力的影响

冯淇元^{1,2}, 王 荻¹, 刘红柏^{1*}

(1. 中国水产科学研究院 黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070; 2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306)

摘要:为探究中草药对施氏鲟热应激抗氧化能力的影响,在水温 22 ℃条件下,采用口灌给药的方法研究了甘草和茯苓两种中药单方对 1 龄施氏鲟(鱼体平均质量: 0.08~0.10 kg)抗氧化能力的影响。每组 30 尾施氏鲟,甘草和茯苓的干质量分别按 0.24 g/kg、0.3 g/kg 体质量给药剂量进行称取,经熬煮浓缩制成水煎剂后,每日口灌甘草、茯苓水煎剂一次,口灌等量蒸馏水作对照,连续给药 21 d。给药结束后,每组取 15 尾鱼在高温 30 ℃下热刺激 2 h 后,与 22 ℃给药组同时采样。测定施氏鲟血清、肝脏及红细胞中的丙二醛(MDA),一氧化氮(NO)含量以及超氧化物歧化酶(SOD),一氧化氮合酶(NOS)活性的变化。结果表明:常温条件下,茯苓组肝脏中 NOS 活性极显著($P < 0.01$)高于对照组。高温条件下,甘草组红细胞中 SOD 活性极显著($P < 0.01$)高于对照组。常温和高温应激后,茯苓组肝脏中 SOD 活性最高,甘草组血清、肝脏中 MDA 含量最低。研究表明:甘草组可促进机体对高温热应激做出良好的反应,利于提高鱼体热应激耐受能力。

关键词:施氏鲟;甘草;茯苓;抗氧化

中图分类号:S942.5;S965.215 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-2286(2019)01-0138-09

Effects of Chinese Herbal Medicines *Glycyrrhiza uralensis* and *Poria cocos* on Antioxidant Capacity of Amur Sturgeons Under Heat Stress

FENG Qi-yuan^{1,2}, WANG Di¹, LIU Hong-bai^{1*}

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Juvenile Amur sturgeons *Acipenser schrenckii* with body weight of (0.08~0.10) kg were administered orally with Chinese herbal medicine decoction of *Glycyrrhiza uralensis* or *Poria cocos* at a dose 0.24 g/kg body weight and 0.3 g/kg body weight per day for 21 days, and the Amur sturgeons in the control group were given oral administration of distilled water. After the drug administration, 15 Amur sturgeons in each group were thermally stimulated at 30 ℃ for 2 h and then the blood and liver were sampled together with the experimental groups at 22 ℃. And then the activities of SOD, NOS and the contents of MDA, NO in blood and liver were deter-

收稿日期:2018-06-13 **修回日期:**2018-07-13

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-46)

Project supported by Special Fund for the Construction of National Modern Agricultural Industrial Technology System(CARS-46)

作者简介:冯淇元(1994—),男,硕士生,主要从事鱼类病害防治研究, fengxiaole8044@yahoo.com; *通信作者:刘红柏,研究员,博士,博士生导师, liuhongbai@sina.com。

mined. The activity of NOS in the liver of *Poria cocos* was obviously higher than that in the control group exposed to normal water temperature ($P < 0.01$). And the activity of SOD in the red blood cells of *Glycyrrhiza uralensis* was obviously higher than that in the high water temperature control group ($P < 0.01$). After normal temperature and high temperature stress, the maximal SOD activity was found in the liver of the Amur sturgeons with oral administration of *Poria cocos* and the minimal MDA content was found in the serum or liver of the Amur sturgeons with oral administration of *Glycyrrhiza uralensis*. *Glycyrrhiza uralensis* enables the body to respond better in heat stress, which is beneficial to improve the tolerance to heat stress of Amur sturgeon.

Keywords: *Acipenser schrenckii*; *Glycyrrhiza uralensis*; *Poria cocos*; antioxidant

鲟鱼是古老的软骨硬磷鱼类,起源于白垩纪时期,迄今已有2亿年的历史,素有“水中活化石”之称,鲟鱼的皮可制成皮革,其卵制成的鱼子酱素有“黑珍珠”之称^[1]。我国鲟鱼的养殖品种丰富,多达十余种^[2],包括施氏鲟、西伯利亚鲟、俄罗斯鲟、达氏鳇、欧鳇、小体鲟和俄罗斯鲟等,本实验施氏鲟主要分布在黑龙江流域,其生长速度快,抗病能力强,经济价值高,已成为我国养殖鱼的一种流行品种^[3]。

在水产养殖中,温度是影响生物体的生长、发育和代谢的重要环境因子。鱼类对水温的变化比较敏感,虽然它们可以适应一定的高温环境,但却存在一个承受范围,超出这个范围就会造成鱼体损伤,甚至导致死亡^[4]。鲟鱼最高生存温度为30℃,28℃以上摄食量降低、生长缓慢^[5]。而施氏鲟的最适生长温度为21~24℃^[6]。随着水产养殖规模化发展及全球性气温的普遍升高,热应激现象越来越容易产生。同时,在需氧生物的正常代谢过程中,产生超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)这种代谢副产物。适量的自由基可以杀死细菌并调节身体的免疫,但是过量的自由基也会导致氧化胁迫(Oxidative stress),破坏动物体的生理机能^[7]。因此,有效去除过量的氧自由基是提高鱼体内抗氧化能力的关键。中草药可以增强鱼类抗氧化能力,其有效成分通过清除超氧阴离子从而调节体内的氧化-抗氧化系统,抑制体内产生超氧阴离子,减轻机体自由基的损伤^[8]。

中草药除了能促进动物免疫力外,还能促进水产动物繁育,提高抗应激能力等^[9],因此,通过筛选具有抗氧化和清除自由基的物质来提高鱼类的抗氧化能力是十分有益的。中草药作为饲料添加剂已成为国内外研究的热点^[10]。本实验所选甘草具有抗炎、解毒、抗肿瘤、防治肝损害、降血脂等药理作用^[11],其主要活性物质中的甘草酸,可通过在体内水解为甘草次酸来调控机体的生长代谢及抗氧化能力^[12]。茯苓中含有的多糖物质可以增强水产动物的非特异性免疫能力,能够增加鱼体内有益菌群数,利于鱼体吸收营养物质^[13];茯苓具有抑菌、增强机体抗病能力等功效。同时,茯苓主要化学成分的茯苓多糖,具有抗肿瘤、抗病毒、抗衰老和抗氧化作用^[14]。目前,甘草和茯苓在水产养殖方面的报道较少^[15-17],本试验研究甘草和茯苓对施氏鲟热应激下抗氧化能力的影响,旨在为施氏鲟在热应激抗氧化方面的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

中国水产科学研究院鲟鱼养殖技术工程中心提供实验用健康的施氏鲟(鱼体平均质量:0.08~0.10 kg);实验用中草药来自世一堂药店,研磨充分后待用;超氧化物歧化酶(SOD)测试盒、一氧化氮(NO)试剂盒、一氧化氮合酶(NOS)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒均从南京建成生物工程研究所购买。

1.2 方法

1.2.1 中药水煎剂的制备 实验选用甘草和茯苓两种中药。甘草和茯苓的干质量分别按照0.24 g/kg, 0.3 g/kg体质量进行称取并放入砂锅浸泡30 min,熬煮45 min后加水倒出,再加水熬煮30 min滤出,合并两次药汁用电炉加热浓缩药物,其浓度为1 g/mL,高压灭菌后储存在4℃冰箱。

1.2.2 实验鲟的饲养及样品采集 实验分为对照组、甘草组和茯苓组,每组随机选取健康、非免疫状态下的施氏鲟各30尾,在室内水族箱(0.90 m × 0.50 m × 0.45 m)中22℃水温下,每天按2%体质量预饲基础饲料,两周后,每日分别按0.24 g/kg, 0.3 g/kg鱼体质量口灌一次甘草或茯苓水煎剂,同时口灌等量蒸馏水

做对照,连续给药 21 d。饲养期间,早晚投喂各一次,间隔 12 h;正式实验期间,施氏鲟空腹 22 h 后灌药,用软管通过鱼的口腔肠道直接灌服到鱼的胃部,防止回吐。经过 1~2 h 后投喂饲料,间隔 12 h 后进行采样。将 15 尾鱼在 30 ℃水温下热刺激 2 h,然后同正常水温(22 ℃)组一起取样。依次采集每组样品,采取尾静脉采血,加入盛有 1~2 mL 生理盐水的带刻度离心管中,500~1 000 r/min 离心 10 min。用微量移液器或针筒接上麻醉针头吸净上层清液,留下沉淀的红细胞。在沉淀的红细胞中加入冷双蒸水 0.2 mL,混匀再加入 0.1 mL 体积分数为 95% 乙醇,置于旋涡混匀器上充分震荡 30 s。加入三氯甲烷 0.1 mL 置旋涡混匀器充分抽提混匀 1 min。3 500 r/min 离心 8 min 后分层,上层为所需红细胞的 SOD 抽提液,与采集的鱼肝组织一同存入-80 ℃冰箱中。

1.3 各项指标含量的检测

1.3.1 样品前处理 称取样品组织按 1:9 的比例与生理盐水进行稀释后匀浆,根据各试剂盒测定要求,检测样品上清液。血清置于 37 ℃水浴融化后检测,检测样本数 $n=15$,并设立平行样。

1.3.2 活性物质及酶活力的检测 超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、一氧化氮合酶(Nitric oxide synthase, NOS)活性以及丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、一氧化氮(Nitric oxide, NO)含量均按照各检测试剂盒要求进行检测;采用考马斯亮蓝蛋白检测试剂盒检测肝组织匀浆中的蛋白含量。

1.4 数据处理

用“平均值±标准差”表示数据,并采用 SPSS 19.0 软件中的单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行统计,通过邓肯氏法多重比较,分析组间差异显著性,以 $P<0.05$ 为显著性判断标准。

2 结果与分析

2.1 血清、肝脏及红细胞中 SOD 活性的变化

施氏鲟血清、肝脏及红细胞中 SOD 的活性值见表 1。甘草组血清中 SOD 活性极显著($P<0.01$)高于对照组,肝脏中 SOD 活性显著($P<0.05$)高于对照组,红细胞在高温应激后其 SOD 活性与对照组形成极显著($P<0.01$)差异。茯苓组血清中 SOD 活性在常温条件下显著($P<0.05$)高于对照组,肝脏中 SOD 活性极显著($P<0.01$)高于对照组,红细胞中 SOD 活性在高温应激后与对照组形成显著($P<0.05$)差异。其它组间差异不明显。

表 1 灌服甘草和茯苓后施氏鲟的血清、肝脏及红细胞中 SOD 活性的变化
Tab.1 The changes of SOD activity in the serum,liver and red blood cells of the Amur sturgeon after taking *Glycyrrhiza uralensiss* and *Poria cocos*

组别 Groups	血清/(NU·mL ⁻¹) Serum	肝脏/(NU·mgprot ⁻¹) Liver	红细胞/(NU·gHb ⁻¹) Erythrocyte
对照—常温 Normal temperature control	96.62±15.64 ^a	443.26±36.02 ^a	21 954.92±13 378.13 ^a
对照—高温 High temperature control	86.61±15.65 ^a	349.46±168.70 ^a	23 308.29±5 953.27 ^a
甘草—常温 <i>Glycyrrhiza</i> -normal temperature	114.74±8.32 ^c	545.98±25.81 ^b	21 163.08±6 418.95 ^a
甘草—高温 <i>Glycyrrhiza</i> -high temperature	120.68±33.56 ^c	560.68±34.34 ^b	35 499.87±12 115.44 ^c
茯苓—常温 <i>Poria cocos</i> -normal temperature	103.32±27.75 ^b	858.91±400.64 ^c	21 981.84±11 643.24 ^a
茯苓—高温 <i>Poria cocos</i> -high temperature	91.71±12.45 ^a	1 274.2±476.68 ^c	26 888.25±8 579.08 ^b

同一列标相邻字母的数值表示差异显著($P<0.05$);标相间字母的数值表示差异极显著($P<0.01$),下同

The adjacent letters in the same column indicate striking difference($P<0.05$); interphase letters mean the difference is very striking,et sequentia

2.2 肝脏和血清中MDA含量的变化

施氏鲟肝脏和血清中MDA数值见表2。甘草组血清中MDA含量极显著($P<0.01$)低于对照组;肝脏中MDA含量在常温条件下显著($P<0.05$)低于对照组,在高温应激后极显著($P<0.01$)低于对照组。茯苓组血清中MDA含量在常温条件下显著($P<0.05$)低于对照组,在高温应激后其MDA含量极显著($P<0.01$)低于对照组;肝脏中MDA含量在高温应激后与对照组形成极显著($P<0.01$)差异。甘草和茯苓均能降低施氏鲟血清及肝脏中MDA的含量,但甘草效果更为显著。

表2 灌服甘草和茯苓后施氏鲟血清及肝脏中MDA的变化
Tab.2 The changes of MDA in the serum and liver of the Amur sturgeon after taking *Glycyrrhiza uralensis* and *Poria cocos*

组别 Groups	血清/(nmol·L ⁻¹) Serum	肝脏/(nmol·mgprot ⁻¹) Liver
对照—常温 Normal temperature control	18.70±1.74 ^a	1.25±0.24 ^a
对照—高温 High temperature control	18.53±1.47 ^a	1.62±0.63 ^a
甘草—常温 <i>Glycyrrhiza uralensis</i> —normal temperature	6.07±0.94 ^c	1.08±0.11 ^b
甘草—高温 <i>Glycyrrhiza uralensis</i> —high temperature	8.66±1.70 ^c	1.04±0.39 ^c
茯苓—常温 <i>Poria cocos</i> —normal temperature	13.04±2.03 ^b	1.46±0.36 ^a
茯苓—高温 <i>Poria cocos</i> —high temperature	9.38±2.75 ^c	1.02±0.43 ^c

2.3 血清和肝脏中NO及NOS含量的变化

血清和肝脏中NO及NOS含量见表3。对照组高温应激后其血清中NO含量显著($P<0.05$)降低,同时高温应激后对照组肝脏中NOS活性极显著($P<0.01$)升高。

表3 灌服甘草和茯苓后施氏鲟血清及肝脏中NO、NOS的变化
Tab.3 The changes of NO and NOS in the serum and liver of the Amur sturgeon after taking *Glycyrrhiza uralensis* and *Poria cocos*

组别 Groups	血清 NO/(μmol·L ⁻¹) Serum NO	肝脏 NO/(μmol·gprot ⁻¹) Liver NO	血清 NOS/(U·mL ⁻¹) Serum NOS	肝脏 NOS/(U·mgprot ⁻¹) Liver NOS
对照—常温 DZ-CT	469.94±25.74 ^a	20.91±3.87 ^a	29.29±4.98 ^a	0.10±0.03 ^a
对照—高温 DZ-HT	449.16±30.99 ^b	16.78±4.67 ^a	28.52±4.56 ^a	0.21±0.18 ^c
甘草—常温 Gu-CT	842.61±50.31 ^c	19.27±0.92 ^a	14.85±4.12 ^c	0.06±0.03 ^b
甘草—高温 Gu-HT	715.63±46.94 ^b	18.49±1.61 ^a	14.15±3.90 ^c	0.11±0.03 ^b
茯苓—常温 Pc-CT	494.62±14.61 ^a	17.05±2.07 ^a	24.94±8.11 ^b	0.22±0.06 ^c
茯苓—高温 Pc-HT	471.51±41.50 ^a	20.52±6.91 ^a	22.00±4.20 ^b	0.21±0.11 ^c

甘草—常温组血清中NO含量极显著($P<0.01$)高于对照组,NOS活性极显著($P<0.01$)低于对照组;肝脏中NOS活性显著($P<0.05$)低于对照组。甘草—高温组血清中NOS活性与对照组形成极显著($P<0.01$)差异;茯苓—常温组血清中NOS活性显著低于对照组,肝脏中NOS活性与对照组形成极显著($P<0.01$)差异。茯苓—高温组血清中NOS活性显著低于对照组,其肝脏中NOS活性与对照组形成极显著($P<0.01$)差异。其它情况下无显著性差异。

3 讨论

3.1 甘草和茯苓对施氏鲟中SOD活性的影响

在生物体中,SOD作为唯一使用O^{2·-}为底物的酶,通过歧化反应来抑制细胞受活性氧自由基的损伤^[18]。SOD主要存在于真核细胞质、叶绿体和细菌细胞质中,可以时刻清除细胞代谢所产生的氧自由基^[19]。同时,中草药的有效成分如多糖、生物碱、挥发油、有机酸等可激活网状内皮细胞及补体,诱生多种细胞因子来调节鱼体免疫力。

本实验中,甘草组和茯苓组在常温和高温条件下对施氏鲟血清、肝脏和红细胞中SOD活性均有提高,尤其茯苓组在肝脏中与对照组形成极显著差异。高温条件下,甘草组红细胞中SOD活性极显著($P < 0.01$)高于对照组,说明甘草发挥明显的抗氧化作用。Yokozawa等^[20]发现甘草酸可促进内源性抗氧化酶如谷胱甘肽过氧化物酶活性恢复,清除氧自由基,进而提高机体抗氧化能力。甘草酸二铵可增强SOD、ATP等酶活性,防止心肌脂质过氧化^[21]。而茯苓多糖可保护免疫器官、抗脾脏肿大、增强细胞免疫、还能促进血清免疫球蛋白IgA、IgG和IgM生物合成,促使自然杀伤细胞(Natural killer cell,NK)细胞释放细胞因子等参与免疫调节^[22]。

王荻等^[23]在对施氏鲟的研究中,表明鱼腥草和复方一(以党参、白术为主药,茯苓、当归等为辅药)可有效增强机体SOD活性。陈玉春^[24]在对镜鲤饲喂复方药物饲料后,机体SOD活性显著高于对照组。同时赵岩等^[25]在对仔猪饲喂饲料的基础上,添加了甘草、茯苓等中草药制剂,其血清中SOD活性发生显著升高。本试验也表明:甘草组和茯苓组机体各组织中SOD活性均有所提高,说明甘草和茯苓对机体中组织或器官做出了积极的影响^[26-27],有效清除了机体因热应激产生的过量自由基^[28],进而增强了机体抗氧化能力。通过数据可以看出,甘草组在提高施氏鲟抗氧化能力方面要显著高于茯苓组。温度升高后,甘草组可以迅速提高鱼的应激反应,能更好的促进鱼体进行免疫应答,从而避免鱼体造成严重伤害。SOD的活性间接地反应了机体清除氧自由基的能力,在对板蓝根^[29]、茯苓^[30]、黄芪^[31]等的相关研究中与本实验甘草和茯苓的抗氧化作用效果一致。

3.2 甘草和茯苓对施氏鲟中MDA含量的影响

生物体内自由基含量过高将引起脂氧化反应,导致过量过氧化物丙二醛(MDA)的产生。周明等^[32]研究表明,组织中的丙二醛(MDA)是毒性极强的物质,代表着脂质过氧化的高低,可间接反映体内氧自由基水平的变化。MDA可以使细胞膜中的多不饱和脂肪酸被氧化,使细胞膜受损^[33]。MDA分解可产生大量的醛类、烃类和醇类,其活性的高低反应了机体细胞受自由基损害的严重程度。因此,MDA可作为衡量机体抗氧化能力的间接指标。

有研究结果显示^[34-35],中草药方剂明显降低机体中MDA的产生,且各组鱼血清和肝脏中MDA含量相比对照组均有不同程度的下降。本实验也表明,甘草组血清和肝脏中MDA含量除肝脏-常温组以外,其余各项MDA含量均极显著($P < 0.01$)低于对照组,而茯苓组各项MDA含量降低程度相比甘草组不明显。本研究表明,甘草和茯苓均能降低机体中MDA含量,不同程度地降低了脂质过氧化物MDA的产生,进而防止机体受损^[36]。而甘草组相比茯苓组降低机体中MDA含量的效果更好,究其原因可能是甘草和茯苓中有效成分可以提高清除自由基酶的活性,通过避免自由基大量产生而引起脂质过氧化,起到保护肝细胞免受损伤的作用。此外,机体在热应激条件下,由于鱼体机能的状态、药物化学成分不尽相同,影响药物对机体的作用,导致机体对甘草和茯苓有效成分的吸收及利用存在差异^[37]。

3.3 甘草和茯苓对施氏鲟中NO含量、NOS活性的影响

生物体的各组织器官中均含有NO,它不仅是血液循环、免疫杀伤和神经调节的重要因子,还可以通过杀伤致病菌和病毒等方式来调节机体的非特异性免疫^[38]。NO作为免疫调节剂、神经递质及血管扩张剂,可与机体内超氧阴离子形成亚硝酸盐,形成超氧化物细胞毒效应的化学屏障,被称为超氧化物的清洁剂^[39]。适量的NO可清除活性氧,而过量的NO则会造成机体过氧化损伤。NO可通过抑制和杀伤病毒、细菌、真菌及寄生虫来提高非特异性免疫功能和抗病力,在免疫系统中起着至关重要的作用^[40]。同时,NOS作为催化合成NO的一种酶,可以调节机体的免疫系统,其活力一定程度上作为评价机体健康状况与抗病力的指标^[41-42]。

有多篇报道指出,NO和NOS在机体抗氧化及免疫系统方面具有一定调控作用^[43-44]。本实验中:甘草组在常温条件下鱼体血清中NO含量极显著高于对照组,在高温条件下血清中NO含量显著高于对照组;茯苓组鱼体血清和肝脏中NO含量与对照组无明显差异。这表明甘草更有利于鱼体内NO的合成,提升了清除氧自由基的能力,起到了抗氧化作用。同时,甘草组相比茯苓组明显降低了血清和肝脏中NOS活性,NO和NOS在机体中的作用机制较为复杂,一方面,适量的NO可以终止脂质自由基传播链式反应,起

到抗氧化作用^[39];另一方面,NOS催化合成过量NO会导致与氧自由基共存,使机体受损^[7]。连续口服甘草和茯苓方剂21 d后,甘草组血清中NO含量和NOS活性变化较剧烈,而茯苓组变化较平缓,且受热刺激影响不大。因此,甘草可作为增强施氏鲟抗氧化能力的备选药物,同时应进一步研究茯苓组的适宜给药剂量。

抗热应激类中草药具有良好的药效,中草药对热应激状态下虾^[45]、施氏鲟^[5]及鲫鱼^[46]都有不同程度的增强机体免疫力的作用。本实验通过研究甘草和茯苓在适温及热应激情况下对施氏鲟抗氧化能力相关指标的影响,用以筛选可以提高施氏鲟抗氧化能力的中草药备选方剂。实验结果表明:甘草、茯苓两种中药单方可以不同程度提高施氏鲟抗氧化能力,可能是甘草中的主要活性物质甘草次酸^[12],以及茯苓的主要成分茯苓多糖^[14],发挥了抗氧化的作用。甘草组和茯苓组相比而言,甘草的干质量按0.24 g/kg体质量的剂量配伍可对高温热应激做出良好的反应,有助于提高鱼体对热应激的耐受能力。

参考文献:

- [1] 李雷,马波.施氏鲟*Acipenser schrenckii*的生物学特性及资源状况[J].水产学杂志,2016,29(4):51-54.
Li L, Ma B. Biology and resources status of *Acipenser schrenckii* [J]. Chinese Journal of Fisheries, 2016, 29(4): 51-54.
- [2] 张颖,孙大江,王斌,等.杂交鲟“鲟龙1号”[J].中国水产,2017(5):62-67.
Zhang Y, Sun D J, Wang B, et al. Hybrid sturgeon “Sturgeon dragon 1” [J]. China Fisheries, 2017(5): 62-67.
- [3] 栾学斌,王荻,刘红柏.恩诺沙星诱导施氏鲟药物性肝损伤模型的建立及复方中草药保肝作用研究[J].大连海洋大学学报,2017,32(1):13-19.
Luan X B, Wang D, Liu H B. A model of drug-induced liver injury caused by enrofloxacin and protective effects of compound Chinese herbal medicines on livers in *Amur sturgeon Acipenser schrenckii* [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2017, 32(1): 13-19.
- [4] 桂丹,刘文斌.不同营养添加剂对热应激异育银鲫血液生化指标的影响[J].动物营养学报,2008,20(2):228-233.
Gui D, Liu W B. Effects of different nutritional additives on serum biochemical indices of heat-stressed Carp *Carassius auratus gibelio* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2008, 20(2): 228-233.
- [5] 王荻,刘红柏.施氏鲟抗热应激中草药免疫制剂的筛选[J].大连海洋大学学报,2016,31(6):635-639.
Wang D, Liu H B. Screening of Chinese herbal medicines related to anti-heat stress in *Amur sturgeon Acipenser schrenckii* Brandt [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2016, 31(6): 635-639.
- [6] 白海文,张颖,李雪,等.温度对施氏鲟幼鱼摄食、生长和肠道消化酶活性的影响[J].中国水产科学,2012,19(5):799-805.
Bai H W, Zhang Y, Li X, et al. Effects of water temperature on feeding, growth and activities of digestive enzymes of juvenile *Acipenser schrenckii* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(5): 799-805.
- [7] 王荻,刘红柏.中药复方A对施氏鲟抗氧化能力的影响[J].中国农学通报,2013,29(32):87-90.
Wang D, Liu H B. Effects of prescription A on anti-oxidation capability in *Amur sturgeon (Acipenser schrenckii Brandt.)* [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2013, 29(32): 87-90.
- [8] 刘红柏,宿斌,王荻.中草药方剂对哲罗鱼抗氧化能力的影响[J].东北农业大学学报,2012,43(9):127-134.
Liu H B, Su B, Wang D. The effect of Chinese herbal medicine on antioxidant capacity of *Hucho taimen* [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2012, 43(9): 127-134.
- [9] 杜强,杨兴,吴林菁,等.中草药添加剂在水产养殖中的作用机制及应用前景[J].饲料研究,2014(11):71-73.
Du Q, Yang X, Wu L Q, et al. The mechanism and application prospect of Chinese herbal medicine additives in aquaculture [J]. Feed Research, 2014(11): 71-73.
- [10] 赵倩,陈玉春,高绪娜,等.枯草芽孢杆菌发酵中药制剂对鲤鱼生长性能、生化指标、抗氧化指标及抗感染能力的影响[J].中国畜牧兽医,2017,44(3):724-731.
Zhao Q, Chen Y C, Gao X N, et al. Effects of bacillus subtilis fermentation on the growth performance, biochemical index, antioxidant index and anti-infection ability of carp [J]. China Animal Husbandry, 2017, 44(3): 724-731.
- [11] 于辉,李春香,宫凌涛,等.甘草的药理作用概述[J].现代生物医学进展,2006,6(4):77-79.

- Yu H, Li C X, Gong L T, et al. Outlines of pharmacological action of glycyrrhiza[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2006, 6(4): 77-79.
- [12] 蔡东森, 蒋广震, 王丽娜, 等. 甘草次酸对团头鲂生长、脂肪沉积与抗氧化功能的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1514-1521.
- Cai D S, Jiang G Z, Wang L N, et al. Effects of dietary glycyrrhetic acid levels on growth performance, lipid deposition and antioxidant capacity of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1514-1521.
- [13] 梁英, 姜宁, 何雯娟, 等. 黄芩多糖对肉仔鸡生长性能和免疫功能的影响[J]. 动物营养学报, 2010, 22(4): 1031-1036.
- Liang Y, Jiang N, He W J, et al. Effects of astragalus polysaccharide on growth performance and immune function of broilers [J]. Acta Zoonutrimenta Sinica, 2010, 22(4): 1031-1036.
- [14] 王庆奎, 赵海运, 陈成勋, 等. 茯苓多糖对点带石斑鱼非特异性免疫力的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 32(22): 34-36.
- Wang Q K, Zhao H Y, Chen C X, et al. Effects of dietary pachyman on innate immunity of *Epinephelus malabaricus* [J]. Anhui Agricultural Sciences, 2011, 32(22): 34-36.
- [15] 王淑娴, 李天保, 樊英, 等. 茯苓多糖对刺参体腔液中免疫因子活性的影响[J]. 饲料研究, 2010(1): 59-61.
- Wang S X, Li T B, Fan Y, et al. The effect of *Poria cocos* polysaccharide on the activity of immune factors in the body cavity [J]. Feed Research, 2010(1): 59-61.
- [16] 王世锋, 徐萍, 古丽米热·安外尔, 等. 甘草对铜胁迫下鲫鱼肝胰脏的抗氧化酶活性及血液红细胞中微核数量的影响[J]. 水产科学, 2014, 33(11): 713-717.
- Wang S F, Xu P, Gulimire Anwaier, et al. Effect of licorice on antioxidant enzyme activity in hepatopancreas and micronucleus number in red blood cell of crucian carp *Carassius auratus* exposed to Cu^{2+} Stress [J]. Fisheries Science, 2014, 33(11): 713-717.
- [17] 周嫚, 米海峰, 刘文斌, 等. 甘草提取物对团头鲂生长性能、体组成、脂肪沉积的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(6): 147-151.
- Zhou M, Mi H F, Liu W B, et al. The effects of licorice extract on the growth performance, body composition and fat deposition of the group [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(6): 147-151.
- [18] 李安娜, 张迎梅, 李媛伶, 等. 十二烷基硫酸钠对斑马鱼抗氧化能力的影响[J]. 四川动物, 2008, 27(6): 993-996.
- Li A N, Zhang Y M, Li A L, et al. Effect of sodium dodecyl sulfate on antioxidant capability of *Brachydanio rerio* [J]. Sichuan Journal of Zoology, 2008, 27(6): 993-996.
- [19] 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.
- Dong L, He Y Z, Wang Y L, et al. Research progress on application of superoxide dismutase (SOD) [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2013, 15(5): 53-58.
- [20] Yokozawa T, Liu Z W, Chen C P. Protective effects of *Glycyrrhizae* radix extract and its compounds in a renal hypoxia (ischemia)-re-oxygenation (reperfusion) model [J]. Phytomedicine, 2000, 6(6): 439-445.
- [21] 余修洪, 李远重, 蒋建刚. 甘草酸二铵对大鼠心肌缺血再灌注损伤脂质过氧化及心肌酶活性的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2005, 10(8): 921-924.
- Yu X H, Li Y Z, Jiang J G. Effects of dammonii glycyrrhizinatis on lipid peroxidation and enzyme activity in ischemia-reperfusion myocardium rats [J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2005, 10(8): 921-924.
- [22] 林丽霞, 梁国瑞, 陈燕, 等. 茯苓多糖的免疫效应和抗肿瘤作用研究进展[J]. 环球中医药, 2015, 8(01): 112-115.
- Lin L X, Liang G R, Chen Y, et al. Immune effects and antitumor effect of pachyman: a research progress [J]. Global Traditional Chinese Medicine, 2015, 8(01): 112-115.
- [23] 王荻, 刘红柏, 廉超, 等. 施氏鲟抗氧化中草药方剂的筛选[J]. 江西农业大学学报, 2016, 38(5): 961-967.
- Wang D, Liu H B, Lian C, et al. Screening of the antioxidant Chinese herbal medicines for Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii* Brandt) [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2016, 38(5): 961-967.
- [24] 陈玉春. 复方中草药对镜鲤(*Cyprinus carpio* L.)非特异性免疫及抗氧化功能的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2008.
- Chen Y C. The effect of compound Chinese herbal medicine on non-specific immunity and antioxidation function of *Cyprinus carpio* L. [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2008.

- [25] 赵岩,陈红.复方中草药制剂对仔猪免疫机能和抗氧化能力的影响[J].现代畜牧科技,2016(7):177.
Zhao Y, Chen H. The effect of compound Chinese herbal preparation on immune function and antioxidant capacity of piglets [J]. Modern Animal Husbandry Science & Technology, 2016(7):177.
- [26] 梁拥军,孙向军,孙砚胜,等.复方中草药对宝石鲈抗氧化能力及免疫功能的影响[J].安徽农业科学,2009,37(15):7026-7029.
Liang Y J, Sun X J, Sun Y S, et al. Effect of the compound chinese herbal medicine on the antioxidant capacity and immune function of perch [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(15):7026-7029.
- [27] 孙学亮,郭永军,季延滨,等.3种复方中草药对中华绒螯蟹生长和部分抗氧化指标的影响[J].经济动物学报,2015,19(2):86-94.
Sun X L, Guo Y J, Ji Y B, et al. Effects of three kinds of compound chinese herbal on growth and antioxidative indicators of *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Economic Animal, 2015, 19(2):86-94.
- [28] 田娟,冷向军,李小勤,等.复方中草药制剂对草鱼生长性能、肌肉成分和血清非特异性免疫的影响[J].安徽农业科学,2008,36(28):12282-12284.
Tian J, Leng X J, Li X Q, et al. Effects of Chinese herbal formula on the growth performance, muscle composition and serum non-specific immunity of grass carp [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(28):12282-12284.
- [29] 彭翔,夏磊,张洪玉,等.板蓝根对施氏鲟幼鱼抗氧化及免疫功能的影响[J].大连海洋大学学报,2013,28(6):573-577.
Peng X, Xia L, Zhang H Y, et al. Effects of Chinese herbal medicine radix isatidis on antioxidant and immunity in juvenile *Amur sturgeon Acipenser schrenckii* [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2013, 28(6):573-577.
- [30] 黄聪亮,郑佳俐,李凤林,等.茯苓多糖对糖尿病小鼠淋巴细胞DNA损伤及肾组织主要抗氧化酶活性的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2015(7):35-37.
Hung C L, Zheng J L, Li F L, et al. Effects of glabrinus polysaccharide on the DNA damage of lymphocytes in diabetic mice and the main antioxidant activity of kidney tissues [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2015(13):35-37.
- [31] 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].大连海洋大学学报,2006,21(3):231-235.
Liu H B, Lu T Y, Zhang C Y, et al. Effects of the aqueous extract of astragalus root *Astragalus membranaceus* on immunity and antioxidation in *Amur sturgeon (Acipenser schrenckii Brandt)* [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2006, 21(3):231-235.
- [32] 周明,刘波,戈贤平,等.不同水平维生素E对高温应激及常温恢复后团头鲂血清生化指标、肠道抗氧化能力的影响[J].水产学报,2013,37(9):1369-1377.
Zhou M, Liu B, Ge X P, et al. Effects of vitamin E on serum biochemical indexes and antioxidant capacity of *Megalobrama amblycephala* under acute high temperature stress and recovery [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(9):1369-1377.
- [33] 马得莹,单安山.中草药对鸡的抗热应激作用与抗氧化作用[J].畜牧与兽医,2004,36(12):39-41.
Ma D Y, Shan A S. Review of anti-heat stress and antioxidation of Chinese medical herbs in hen [J]. Animal Husbandry, 2004, 36(12):39-41.
- [34] 刘逊,王荻,卢彤岩,等.复方中药免疫添加剂对史氏鲟生长性能和抗氧化力的影响[J].中国农学通报,2012,28(14):130-134.
Liu X, Wang D, Lu T Y, et al. The effects of Chinese herbal compound on growth and antioxidant defenses in *Amur sturgeon* as immune additive [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(14):130-134.
- [35] 赵晶晶.中草药对点带石斑鱼生理生化指标和抗病力的影响[D].天津:天津农学院,2012.
Zhao J J. The effects of Chinese herbal medicine on physiological and biochemical indexes of grouper and its resistance to disease [D]. Tianjin: Tianjin agricultural college, 2012.
- [36] 谭树华,何典翼,严芳,等.亚硝酸钠对鲫鱼肝脏丙二醛含量和总抗氧化能力的影响[J].农业环境科学学报,2005,24(z1):21-24.
Tan X H, He D Y, Yan F, et al. Effects of NaNO_2 on malondialdehyde content and total antioxidative capacity in the liver of

- Carassius auratus*[J].Journal of Agro-Environment Science,2005,24(z1):21-24.
- [37] 张冰,林志健,翟华强,等.基于“三要素”假说研究中药药性的设想[J].中国中药杂志,2008,33(2):221-223.
- Zhang B,Lin Z J,Zhai H Q,et al.Based on the hypothesis of “three elements” hypothesis to study the medicinal properties of traditional Chinese medicine[J].China Journal of Chinese Materia Medica,2008,33(2):221-223.
- [38] 王广军,谢骏,余德光.副溶血弧菌对九孔鲍血清中一氧化氮及一氧化氮合酶活力的影响[J].上海海洋大学学报,2005,14(3):238-241.
- Wang G J,Xie J,Yu D G.Effects of *Vibrio parahaemolyticus* on serum nitric oxide concentration and nitric oxide synthase activity of *Haliotis diversicolor supertexta*[J].Journal of Shanghai Fisheries University,2005,14(3):238-241.
- [39] 孙裔雷,王荻,刘红柏.复方中草药对虹鳟抗氧化能力的影响[J].大连海洋大学学报,2015,30(2):170-174.
- Sun Y L,Wang D,Liu H B.Effects of dietary Chinese herbal medicine compounds on antioxidant capacity in rainbow trout [J].Journal of Dalian Fisheries University,2015,30(2):170-174.
- [40] Bogdan C.Nitric oxide and the immune response[J].Nature Immunology,2001,2(10):907-916.
- [41] 朱其建,邹卫丽,戴习林,等.溶藻弧菌对罗氏沼虾血清中一氧化氮及氧自由基的影响[J].广东农业科学,2012,39(15):140-143.
- Zhu Q J,Zou W L,Dai X L,et al.Effect of *Vibrio alginolyticus* on nitric oxide and oxygen free radical in serum of *Macrobrachium rosenbergii*[J].Guangdong Agricultural Sciences,2012,39(15):140-143.
- [42] Wink D A,Mitchell J B.Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide[J].Free Radical Biology,1998,25(4/5):434-456.
- [43] 王荻,李绍戊,芦彤岩,等.玉屏风散对施氏鲟血液生化指标及非特异性免疫功能的影响[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2012,40(3):39-46.
- Wang D,Li S W,Lu T Y,et al.Effects of jade screen powder on the blood biochemical index and non-specific immune function of *Amur sturgeon*[J].Journal of Northwest,2012,40(3):39-46.
- [44] 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.
- Su L,Liu H B,Wang D,et al.The effect of four kinds of Chinese herbal compound and aps on growth and the contents of NO and NOS in organization of *Carassius auratus*[J].Chinese Journal of Fisheries,2010,23(3):11-15.
- [45] 雷爱莹,曾地刚.复方中草药对凡纳滨对虾热应激蛋白70基因表达的影响[J].南方农业学报,2008,39(4):14-18.
- Lei A Y,Zeng D G.Effects of compound Chinese herbal on the expression of heat stress protein 70 gene in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J].Guangxi Agricultural Sciences,2008,39(4):14-18.
- [46] 李绍戊,王荻,苏岭,等.中草药方剂对鲫鱼热应激蛋白HSP 70表达的影响[J].华北农学报,2012,27(s1):401-405.
- Li S W,Wang D,Su L,et al.Effects of the Chinese herbal compounds on the heat shock protein 70 expression of *Crucian Carp*[J].Acta Agriculturae Boreali-Sinica,2012,27(s1):401-405.