

# 允饲植物源复方制剂对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)组织形态和生长性能的作用研究\*

黄锦炉<sup>1,2</sup> 李爱华<sup>1</sup> 钱雪桥<sup>2①</sup> 谭晓晨<sup>2</sup> 王正凯<sup>2</sup>

(1. 中国科学院水生生物研究所 武汉 430072; 2. 广东海大集团股份有限公司畜牧水产研究中心 广州 511400)

**摘要** 为了进一步评估由白芍(*Radix paeoniae Alba*)、杜仲(*Eucommia ulmoides*)和知母(*Rhizoma anemarrhenae*)组成且具有免疫增强作用的复方制剂 A、B、C 对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)组织形态和生长性能方面可能存在的风险, 本试验将二龄草鱼随机分成 12 个试验组和 2 个对照组, 分别连续投喂含有不同复方制剂的饲料和空白饲料, 在试验第 7、14、21、28 天分别随机从对应试验组中采集 5 尾草鱼肝胰脏、脾脏、肾脏和肠道进行切片制作和组织形态分析; 在试验第 0、29 天分别随机从对应试验组中采集 10 尾草鱼进行肥满度、增重率、特定生长率、脏器比和肠道承重力测定。结果表明, 分别以 2%、4% 剂量添加于草鱼饲料中的复方制剂 A、B、C 对试验草鱼阶段增重率、特定生长率、饵料系数、肝胰体比、肾体比和肠道承重力系列指标均无异常影响。组织形态分析方面, 复方制剂 A 对草鱼肝胰脏、脾脏、肾脏和肠道具有良好的安全性, 而复方制剂 B、C 经连续投喂 21 天起, 对应剂量组草鱼肝胰脏、肾脏逐渐呈现不同程度的组织病变。本文得出结论认为, 即使完全符合允饲要求的天然植物品种, 缺乏基于较全面的评价维度试验证明其具有使用安全性, 则容易仅关注允饲天然植物在效果表达的表象, 而忽略其诱发的组织病变造成组织器官的功能衰退。

**关键词** 允饲植物; 复方制剂; 草鱼; 组织形态; 生长性能; 安全性

**中图分类号** Q176; R285; S965.1 doi: 10.11693/hyhz20161200280

近年来, 越来越多的天然植物被发现对水产动物的生长性能、消化机能和免疫机能具有良好的调节作用(邱小琼等, 2002; Jian *et al*, 2004; 王吉桥等, 2006; 秦志华等, 2015), 且具有毒副作用小、易分解、在环境和动物体内无残留等优点(艾春汉等, 2009)。因此, 天然植物逐渐被寄望于成为生长调节、疾病预防和替抗治疗的新型绿色功能物质。随着农业部公告 1773 号《饲料原料目录》指导性政策的颁发, 列明 115 种具有药用功效的天然植物作为允饲天然植物品种, 符合允饲要求的天然植物应用获得政策性许可, 允饲天然植物作为新型功能型饲用原料的应用开发研究受到行业的广泛重视(农业部, 2012)。然而, 由于完全符合允饲要求的单味或复方天然植物制剂的研

究起步晚, 大量具有应用价值的允饲天然植物对水产动物的安全性和生长特性理论鲜有报道。因此, 以水产动物为模式动物, 围绕允饲天然植物对鱼体的安全性和生长性能研究显得十分迫切。

白芍(*Radix paeoniae Alba*)、杜仲(*Eucommia ulmoides*)和知母(*Rhizoma anemarrhenae*)均属于允饲天然植物。白芍具有平肝止痛、养血调经、敛阴止汗之功效, 具有补血功效(国家药典委员会, 2010; Jin *et al*, 2016), 杜仲能直接刺激网状内皮系统、增强吞噬细胞的活性, 调节细胞免疫功能(Liu *et al*, 2016), 其单方或复方对养殖鱼类均具有促进生长、降低饵料系数和提高免疫的机能(姚红梅等, 2005), 知母具有清热泻火、生津润燥等功效(杨丽蓉, 2002); 以上三种天

\* 广东省博士后科研基金专项资助, B150787 号。黄锦炉, 博士, E-mail: hgl25@163.com

通讯作者: 钱雪桥, 博士后导师, E-mail: qxq@haid.com.cn

收稿日期: 2016-12-16, 收修改稿日期: 2017-02-28

然植物配伍的复方制剂已经证明对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)具有良好的免疫增强作用(本数据另文发表)。然而,与起效复方制剂对应的使用剂量在不同时节节点是否存在诱发草鱼组织损伤或生长抑制风险方面仍为理论空白。本研究以草鱼为模式动物,采用组织形态和生长性能相关指标群,综合评估以白芍、杜仲和知母为组分的复方制剂添加剂不同添加剂量对草鱼组织形态和生长性能的潜在影响,以探寻受试复方制剂作为功能性饲料原料的科学应用提供可靠的理论支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 试验试剂和仪器 甲醛、乙醇、二甲苯等均为国产分析纯;苏木素染色液、伊红染色液(购自谷歌生物公司);精密电子秤(购自梅特勒-托利多仪器有

限公司);其他耗材若干(如挂重辅绳、样品瓶、剪刀、镊子等)。

1.1.2 试验鱼 草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)购自百容良种场,体重规格为 $100\pm 5\text{g}$ 。

### 1.2 试验方法

1.2.1 含允饲植物源复方制剂的饲料颗粒配制参考农业部公告 1173 号,筛选白芍、杜仲、知母三种允饲植物为组分,将上述三种允饲植物分别加水浸泡 30min,第一次水熬 35min,将水提物倒出,再加水熬 35min,过滤,将 2 次水提物全并浓缩成 1mL(相当于 1g 允饲植物),然后与豆粕(CP 43%)混合烘干,最后将含有水提物的豆粕过 80 目粉碎机获得单种允饲植物微粉。按不同混合比例将三种允饲植物的超微粉配制成复方制剂 A、B、C,分别按 2%、4%的比例添加于相同营养配方中(如表 1),制成粒径为 3.0mm 的膨化颗粒饲料。

表 1 含复方制剂的草鱼配合饲料配方表  
Tab.1 The feed formula of *Grass carp* containing compound preparation

原料名称	1#料	2#料	3#料	4#料	5#料	6#料	7#料
小麦	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
米糠粕	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75
豆粕(CP 43%)	28.00	26.00	28.00	26.00	28.00	26.00	30.00
菜籽粕	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
DDGS	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00
统糠	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
大豆油	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
磷酸二氢钙	2.70	2.70	2.70	2.70	2.70	2.70	2.70
氯化胆碱	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
膨润土	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
食盐	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
矿物盐预混料	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
抗氧化剂	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
防霉剂	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
草鱼多维预混料	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
复方制剂 A 低剂量	2.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
复方制剂 A 高剂量	0.00	4.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
复方制剂 B 低剂量	0.00	0.00	2.00	0.00	0.00	0.00	0.00
复方制剂 B 高剂量	0.00	0.00	0.00	4.00	0.00	0.00	0.00
复方制剂 C 低剂量	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	0.00
复方制剂 C 高剂量	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.00	0.00

1.2.2 试验分组与管理 从 6000 尾试验草鱼中随机捞取 4200 尾,每组 100 尾分成 42 个组,各试验组投喂的饲料编号见表 2。每组试验鱼先进行 5—7d 的

驯养,确保各组日均投饵率达到 3%时,即可进行正式试验。正式试验期间,每天投喂 3 餐,日均投喂量为各组试验鱼体重的 3%。

表 2 试验鱼分组表  
Tab.2 The groups of the trial

试验组	饵料编号	平行组数	草鱼尾数(尾/组)	投喂餐数	投饵率(%)	试验用途
复方制剂 A	1#料	3	100	3	3	①
		3	100	3	3	②
	2#料	3	100	3	3	①
		3	100	3	3	②
复方制剂 B	3#号	3	100	3	3	①
		3	100	3	3	②
	4#料	3	100	3	3	①
		3	100	3	3	②
复方制剂 C	5#料	3	100	3	3	①
		3	100	3	3	②
	6#料	3	100	3	3	①
		3	100	3	3	②
空白对照组	7#料	3	100	3	3	①
		3	100	3	3	②

注: 试验用途①是指该组草鱼仅用于定期组织学采样和脏器比指数测定, ②是指该组草鱼仅用于生长性能评估

**1.2.3 临床观察** 试验开始后, 每天仔细观察试验草鱼的表现, 对鱼采食情况、发病及死亡情况等生物学行为作好详细观察与记录。试验第 1、29 天对各组草鱼称重, 统计并且比较体重增长情况。

**1.2.4 病理学检查** 在试验第 7、14、21、28 天, 分别从试验用途①的各组中随机捞取 5 尾草鱼, 观察和记录草鱼体表特征, 然后依次剖杀各组草鱼并采集肝、脾、肾和肠组织, 波音氏液(Bouins)固定, 石蜡切片, H.E 染色, 光镜下检查各组样品的组织形态。

**1.2.5 生长性能测定** 试验第 0、29 天, 分别从试验用途①、②的各组中随机捞取 10 尾草鱼, 称重、测量鱼体长, 完整分离肝胰脏、脾脏和体肾, 分别称重, 同时通过离体中肠肠道挂重换算草鱼肠道承重力。最后按下列公式计算草鱼、增重率、特定生长率、饵料系数、肥满度、肝胰体比、脾体比和肾体比、和肠道承重力。

$$\text{增重率}(\%) = (W_{末} - W_{初}) / W_{初} \times 100$$

$$\text{特定生长率}(\%) = (\ln W_{末} - \ln W_{初}) / t (\text{养殖天数}) \times 100$$

$$\text{饵料系数}(\%) = \text{饲料总投喂量}(\text{g}) / \text{鱼体净增重量}(\text{g}) \times 100$$

$$\text{肥满度} = \text{体重}(\text{g}) / \text{体长}(\text{cm})^3 \times 100$$

$$\text{肝胰体指数}(\%) = \text{肝胰脏平均重量}(\text{g}) / \text{鱼体平均体重} \times 100$$

$$\text{脾体指数}(\%) = \text{脾脏平均重量}(\text{g}) / \text{鱼体平均体重} \times$$

100

$$\text{肾体指数}(\%) = \text{肾脏平均重量}(\text{g}) / \text{鱼体平均体重} \times 100$$

$$\text{肠道承重力}(\text{N}) = \text{肠道所挂重物重量}(\text{kg}) / \text{重力单位}(10\text{kg}/\text{N})$$

## 2 结果

### 2.1 允饲天然植物复方制剂对草鱼生物学行为的影响

试验期间, 1#—7#料连续投喂期间, 各组草鱼发病率和死亡率均为零; 各组草鱼的摄食行为无异常, 抢食积极, 粪便色泽和成形度无异常, 鱼体体色、鳞片光洁度、颅部表皮、颌部皮肤、腹部皮肤、各部鳍条、肛周等均无异常。

### 2.2 允饲天然植物源复方制剂对草鱼组织形态的影响

**2.2.1 肝组织形态分析** 试验期间, 1#料组、2#料组和对照组草鱼肝细胞形态、肝血窦分布、中央静脉形态正常(如图 1A1、1A2、1A7)。试验第 14 天时, 4#组草鱼局部肝组织出现肝细胞水泡变性, 中央静脉淤血, 随着投喂时间的延长至 28 天时, 草鱼肝索严重紊乱, 肝细胞发生广泛水泡变性, 肝细胞膜扩张, 肝细胞核边移(如图 1A4)。而 3#料组草鱼肝组织仅在试验第 28 天时才明显观察到与 4#料组草鱼肝组织相似的病变(如图 1A3)。5#和 6#料组草鱼肝组织则分别在试验第 28、21 天出现明显病变, 病变特征上以肝

细胞严重水泡变性, 局部细胞膜破损, 肝细胞核边移和肝血窦萎缩为主(如图 1A5、1A6)。由此说明, 以 7 天为投喂周期, 试验用量的复方制剂 A、B、C 对草

鱼肝组织均具有良好的安全性; 以 14、21、28 天为投喂周期, 复方制剂 B、C 对草鱼肝组织则可诱发草鱼肝组织发生不同程度的细胞变性。

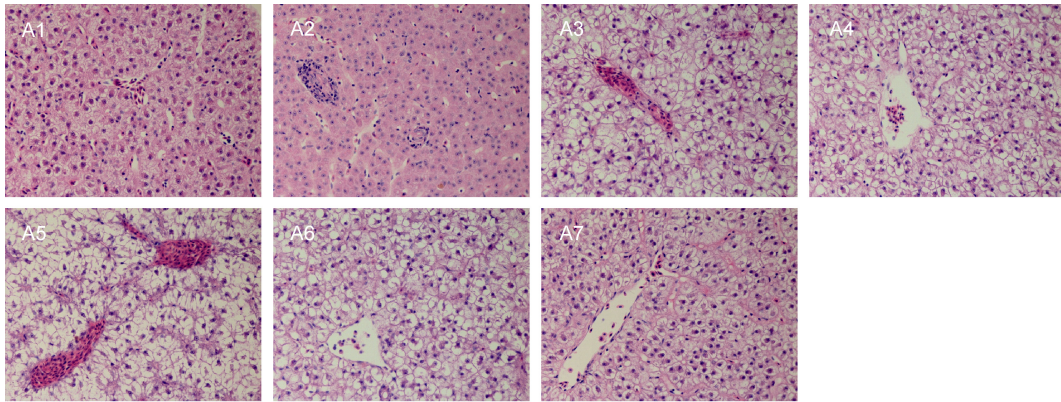


图 1 不同采样时间点草鱼肝组织形态

Fig.1 The liver tissue morphology of grass carp in different time

注: A1—A7 分别代表 1—7#料试验第 7、21、28、28、28、28、7 天时草鱼肝组织形态

**2.2.2 脾组织形态分析** 试验期间, 试验组和对照组草鱼脾组织白髓和红髓的界限清晰, 脾血窦、淋巴细胞生发中心、中央鞘动脉等组织形态正常。各组草鱼脾组织均可观察到分散的含铁血黄素沉着, 被巨噬细胞吞噬形成黑色素巨噬细胞中心(如图 2B1—2B7 白色箭头所示), 尤其以试验第 7、14 天时, 1#和

2#料组草鱼脾组织黑色素巨噬细胞中心分布数量最多。各试验组脾组织未发现淋巴细胞异常病理坏死、红细胞浸润等现象。由此说明, 试验周期内, 试验用量的三种复方制剂不诱发草鱼脾组织产生可见的病理损伤, 其中以 7 天为投喂周期, 试验用量的复方制剂 A 可以明显的增强草鱼脾脏巨噬细胞吞噬活性。

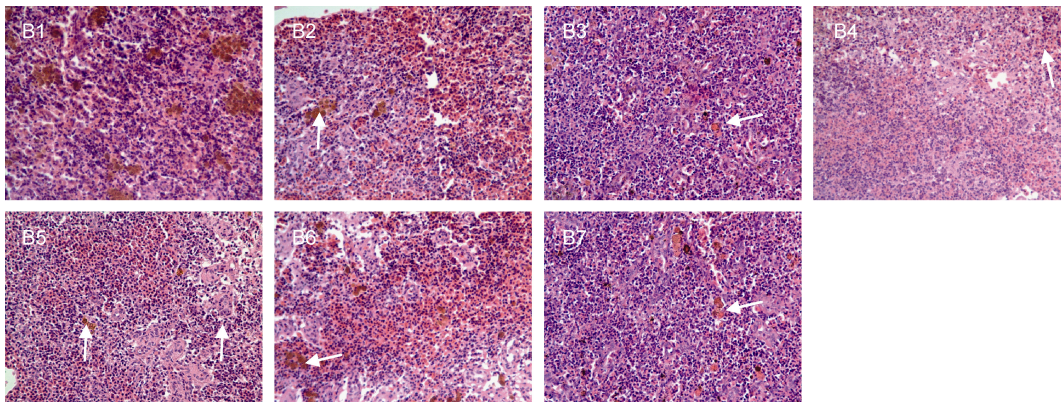


图 2 不同采样时间点草鱼脾组织形态

Fig.2 The spleen tissue morphology of grass carp in different time

注: B1—B7 分别代表 1—7#料试验第 7、7、7、14、21、7、7 天时草鱼脾组织形态

**2.2.3 肾组织形态分析** 试验期间, 1#料组、2#料组和对照组草鱼肾组织形态正常(如图 3C1、3C2、3C7)。试验第 21 天时, 3#和 4#料组草鱼肾组织局肾小管少量上皮细胞坏死、脱落, 当投喂时间延长到 28 天时, 3#和 4#料组草鱼肾组织病变进一步发展, 病变特征上均以肾小管萎缩、肾间质水肿性增宽和淋巴样造血组织坏死

为特征(如图 3C3、3C4)。5#、6#料组草鱼仅在试验第 28 天时肾组织间质才出现轻微水肿(如图 3C5、3C6)。由此说明, 以 7 天为投喂周期, 试验用量的复方制剂 A、B、C 对草鱼肾组织具有良好的安全性; 若以 21、28 天为投喂周期, 复方制剂 B、C 可诱发草鱼肾组织出现以间质水肿、肾小管萎缩和细胞坏死病变。



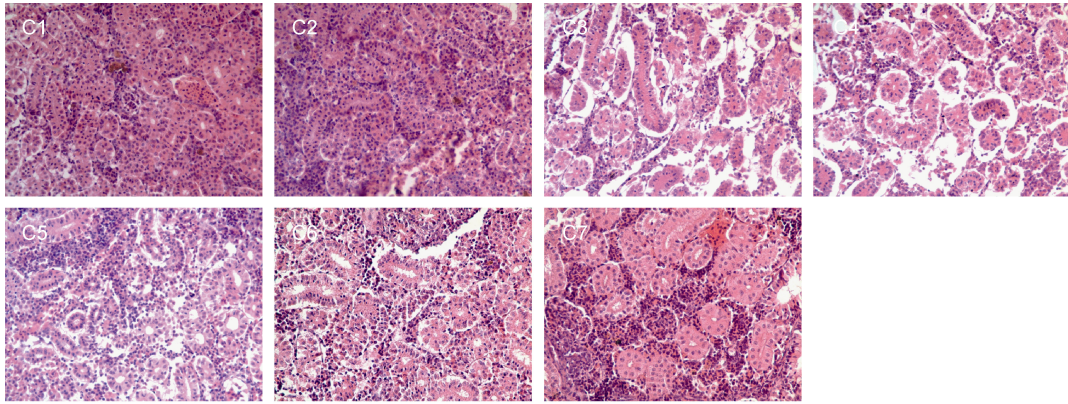


图3 不同采样时间点草鱼肝组织形态

Fig.3 The kidney tissue morphology of grass carp in different time

注: C1—C7 分别代表 1-7#料试验第 7、7、28、28、28、21、7 天时草鱼肾组织形态

**2.2.4 肠组织形态分析** 试验期间, 试验组和对照组草鱼中肠段组织粘膜层中肠绒毛上皮细胞、杯状细胞、中央乳糜管和腺体细胞形态正常, 黏膜下层结缔组织无水肿, 肌层无肌纤维断裂、溶解或坏死的现象, 外膜层结缔组织和毛细血管形态均正常(如图 4,

D1—D7)。版图 D 显示, 不同试验组草鱼肠绒毛两侧分布的杯状细胞存在蓝染与淡染的两种形态, 这种现象与杯状细胞分泌功能的亢奋程度有关。由此说明, 试验周期内, 试验用量的三种复方制剂对草鱼肠组织具有良好的安全性。

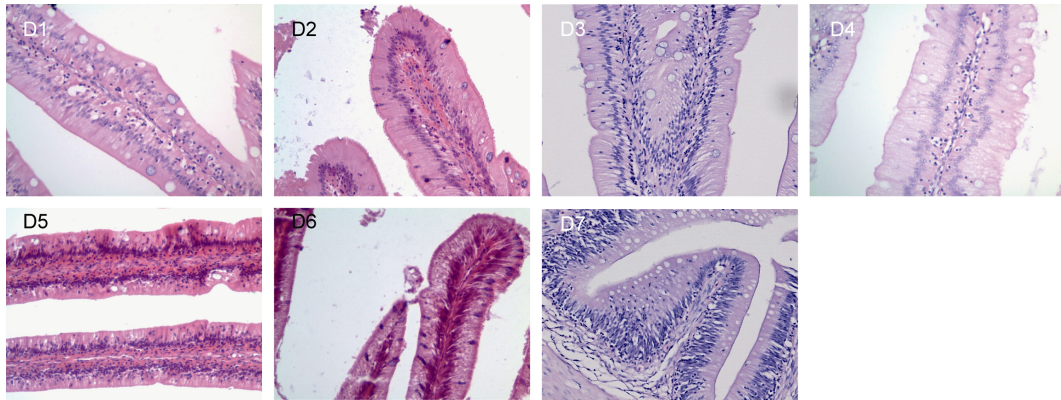


图4 不同采样时间点草鱼肝组织形态

Fig.4 The intestine tissue morphology of grass carp in different time

注: D1—D7 分别代表 1—7#料试验第 7、7、21、7、7、7、7 天时草鱼肾组织形态

### 2.3 允饲天然植物源复方制剂对草鱼生长性能的影响

连续投喂 28 天, 1#和 2#料组草鱼增重率分别达到 60.22%和 61.04%, 均极显著高于剩余试验组的 ( $P < 0.05$ ); 1#和 2#料组草鱼特定生长率分别达到 1.85、1.88, 均极显著高于剩余试验组的 ( $P < 0.05$ ); 1#和 2#料组草鱼饵料系数则显著低于剩余试验组 ( $P < 0.05$ )。这说明, 以 2%、4%剂量在饲料中添加复方制剂 A, 连续投喂 28 天, 对草鱼的阶段增重率、特定生长率和饵料系数均具有显著的调节作用。

表 3 数据显示, 1#和 2#料组草鱼肝胰体比、肾体比均显著高于对照组和剩余试验组的 ( $P < 0.05$ ), 而这两个试验组草鱼脾体比则与对照组的差异不显著 ( $P < 0.05$ )。1#、2#、5#、6#料组草鱼肠道承重力显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 同时 1#和 2#料组草鱼肠道承重力显著高于 5#、6#料组 ( $P < 0.05$ ), 而 3#、4#料组草鱼肠道承重力与对照组差异不显著 ( $P > 0.05$ )。这说明, 以 2%、4%剂量在饲料中添加复方制剂 A, 阶段投喂后对草鱼的肝胰体比、肾体比和肠道承重力均具有显著作用。

表 3 复方制剂对草鱼生长性能的影响  
Tab.3 Effect of botanical preparations allowed feeding on the growth performance of Grass carp

评价指标	测定结果						
	1#料组	2#料组	3#料组	4#料组	5#料组	6#料组	7#料组
增重率(%)	60.22±0.12 <sup>a</sup>	61.04±0.14 <sup>a</sup>	57.12±0.21 <sup>b</sup>	58.24±0.08 <sup>b</sup>	57.4±0.24 <sup>b</sup>	57.96±0.17 <sup>b</sup>	57.41±0.15 <sup>b</sup>
特定增长率(%/d)	1.85±0.02 <sup>a</sup>	1.88±0.04 <sup>a</sup>	1.74±0.03 <sup>b</sup>	1.78±0.02 <sup>b</sup>	1.75±0.01 <sup>b</sup>	1.77±0.03 <sup>b</sup>	1.75±0.02 <sup>b</sup>
饵料系数	1.22±0.00 <sup>c</sup>	1.20±0.00 <sup>c</sup>	1.36±0.01 <sup>ab</sup>	1.30±0.00 <sup>b</sup>	1.39±0.01 <sup>a</sup>	1.43±0.01 <sup>a</sup>	1.32±0.00 <sup>b</sup>
肥满度	2.24±0.04 <sup>ab</sup>	2.26±0.03 <sup>ab</sup>	2.21±0.03 <sup>ab</sup>	2.23±0.04 <sup>ab</sup>	2.33±0.03 <sup>a</sup>	2.16±0.05 <sup>b</sup>	2.25±0.03 <sup>ab</sup>
肝胰体比(%)	2.44±0.12 <sup>Ab</sup>	2.63±0.66 <sup>Aa</sup>	2.31±0.19 <sup>Bab</sup>	2.25±0.17 <sup>Bab</sup>	2.03±0.44 <sup>Cc</sup>	2.14±0.12 <sup>Cbc</sup>	2.04±0.12 <sup>Cc</sup>
脾体比(%)	0.19±0.02 <sup>a</sup>	0.20±0.03 <sup>a</sup>	0.18±0.01 <sup>a</sup>	0.17±0.01 <sup>ab</sup>	0.18±0.02 <sup>b</sup>	0.19±0.02 <sup>a</sup>	0.19±0.03 <sup>a</sup>
肾体比(%)	0.64±0.02 <sup>a</sup>	0.73±0.03 <sup>a</sup>	0.57±0.01 <sup>b</sup>	0.61±0.01 <sup>ab</sup>	0.59±0.02 <sup>b</sup>	0.59±0.02 <sup>b</sup>	0.59±0.02 <sup>b</sup>
肠道承重力(N)	2.57±0.03 <sup>a</sup>	2.69±0.04 <sup>a</sup>	2.26±0.03 <sup>bc</sup>	2.21±0.07 <sup>bc</sup>	2.32±0.05 <sup>b</sup>	2.35±0.05 <sup>b</sup>	2.09±0.03 <sup>c</sup>

注: 同一行中上标大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ ), 小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )

### 3 讨论

#### 3.1 允饲复方制剂对草鱼使用安全性评估的重要性

据报道, 多种具有生物活性的天然植物(单方或复方)作为饲料添加剂时符合有效性要求, 对受试水产动物的生理机能、免疫机能和生长性能具有良好的调节作用(刘华忠等, 2004; 刘钢, 2005; 李霞等, 2011), 这对丰富天然植物作为功能研究的理论具有重要的价值, 也为允饲天然植物作为功能饲料原料开发研究提供重要的技术借鉴。然而由于研究方法和研究目的客观差异的存在, 诸多研究报道涉及与试验条件对应的受试天然植物对试验动物的安全性的数据却近乎空白。本试验基于前期试验结果, 即以白芍、杜仲和知母配制的复方制剂对草鱼多个免疫指标均具有良好的调节作用(本数据另文发表), 通过比较相同试验条件下不同复方制剂对草鱼组织器官形态和生长性能的影响, 探索出符合预期功能的复方制剂在使用时间和使用剂量方面的使用科学性。试验结果表明, 复方制剂 A、复方制剂 B 和复方制剂 C 在不同使用时间节点对草鱼的肝胰脏、脾脏、肾脏和肠道组织形态均产生不同程度的影响, 对生长性能相关的多个评估指标产生了不同程度的影响。上述发现将为复方制剂在草鱼品种上的最佳使用技术方案的输出提供更科学参考。

#### 3.2 允饲复方制剂对草鱼组织形态的影响分析

肝胰脏是消化器官的重要组成部分。肝脏是鱼体功能最多样化的消化器官之一, 肝脏分泌的胆汁具有乳化脂肪的作用, 以增大脂肪与消化酶的接触面积, 使脂解酶较容易地发挥作用, 也具有储存糖原和脂肪及解毒等功能; 胰脏分泌胰蛋白酶、胰脂肪酶、

胰淀粉酶及麦芽糖酶等, 可促进对饲料中蛋白质、脂肪和糖类物质起消化作用。本试验中, 复方制剂 A 以 2%、4%添加于饲料中, 试验期间对草鱼肝细胞形态、肝血窦形态及其分布、中央静脉形态等均无致病作用; 而复方制剂 B、复方制剂 C 两个试验剂量在连续使用 21 天、28 天, 可引起草鱼肝组织出现以肝细胞水泡变性、坏死和肝血窦腔隙萎缩等病变。由此推断, 在特定的使用周期和同等剂量条件下, 与复方制剂 A 相比, 复方制剂 B、复方制剂 C 对草鱼肝组织形态具有诱发病变的风险, 从而引发草鱼肝胰脏生理机能的下降。脾脏在鱼体体液免疫反应中处于相对次要地位, 而且受抗原刺激后其增殖反应以弥散的方式发生在整个器官上, 大多数硬骨鱼类脾内均有明显的椭圆体, 具有捕集各种颗粒性和非颗粒性物质的功能。本试验中, 试验用量的三种复方制剂不诱发草鱼脾组织产生可见的病理损伤, 其中以 7 天为投喂周期, 复方制剂 A 以 2%、4%添加对增强草鱼脾脏巨噬细胞吞噬活性效果更明显。由此推断, 复方制剂 A 对草鱼脾脏具有增强免疫活性的作用。肾脏是鱼体的“过滤器”, 当血液通过肾脏时, 其中的有毒物质、代谢产物和多余的水分滤出, 起到净化血液的作用(陶健芳等, 2007)。本试验中, 复方制剂 B、复方制剂 C 按 2%、4%添加于饲料中, 连续投喂超过 14 天后, 可不同程度引起草鱼肾间质水管、肾小管萎缩等病理变化, 当投喂时间延长至 28 天时, 复方制剂 B、复方制剂 C 高剂量添加组诱发的草鱼肾组织病理变化呈恶化趋势。由此推断, 复方制剂 B、C 的使用周期不宜过长, 否则容易引起草鱼肾功能退行性障碍。肠道是鱼体消化吸收的重要器官, 也是体内最大最复杂的免疫器官, 具有容纳和运输、消化食物和营养吸收等功能,

也具有物理屏障、生物屏障、化学屏障、免疫屏障等功能(涂永锋等, 2004)。本试验中, 三种复方制剂对草鱼肠组织不诱发异常病理变化, 不同试验组草鱼肠绒毛高度、隐窝深度无异常影响, 这与其他研究中关于活性物质会促进肠绒毛生长和隐窝分化的功能表达的结果不同(伍琴等, 2015); 不同组草鱼肠绒毛两侧分布的杯状细胞虽存在蓝染与淡染的差异形态, 这可能与杯状细胞生长阶段不同有关, 可认为是正常生理现象。综上所述, 本试验是以满足草鱼基础营养需要为前后, 通过添加不同复方制剂发现当连续使用时间不当或添加剂量不当时, 添加的复方制剂在产生免疫增强作用的同时, 也会对鱼体某些组织器官产生潜在的组织损伤, 该发现与某些关于营养物质缺乏引起草鱼出现进行性病变的研究结果在机理上完全不同(Xu *et al.*, 2016a, b)。

### 3.3 允饲复方制剂对草鱼生长性能的影响

一种或多种天然植物全株或其部分为原料, 经物理提取或生物发酵法加工, 具有营养、促生长、提高饲料利用率和改善动物产品品质等功效。不同天然植物的配方和添加剂量对鱼类的促生长和增强免疫效果的影响也不同。饲料中添加 0.15% 杜仲叶提取叶可提高草鱼鱼种增重率 8.58% (冷向军等, 2008) 和异育银鲫增重率 12.9% (石英等, 2008), 提高奥尼罗非鱼生长速率 29.7% (姚红梅等, 2005)。当杜仲复配大蒜素组成的复方可有效提高草鱼的存活率和增重率, 而且两种复方以 0.04%—0.08% 添加在提高草鱼存活率方面具有协同作用(罗庆华等, 2007)。杜仲复配大蒜素在提高细鳞鱼最终体重和增重率也良好的效果, 其中复配物以 0.10% 添加使用的效果最佳(王春清等, 2014)。本试验中, 复方制剂 A 两个添加剂量连续使用 28 天对草鱼的增重率、特定生长率均显著高于其他试验组的( $P < 0.05$ ), 而对应试验组饵料系数则显著低于剩余试验组( $P < 0.05$ )。另一方面, 复方制剂 A 两个添加剂量连续使用 28 天草鱼肝胰体比、肾体比均显著高于对照组和剩余试验组的( $P < 0.05$ ), 肠道承重比显著高于对照组和 5#、6#料组( $P < 0.05$ )。

## 4 结论

试验周期内, 分别以 2%、4% 剂量添加于草鱼饲料中的复方制剂 A、B、C 对试验草鱼生长性能无异常影响, 特定试验阶段内, 三种复方制剂对草鱼的阶段增重率、特定生长率、饵料系数、肝胰体比、肾体比和肠道承重比均具有良好的预期效果。然而, 不同

时间节点各试验组草鱼组织器官切片分析结果显示, 复方制剂 A 对草鱼肝胰脏、脾脏、肾脏和肠道不存在诱发组织病变的风险, 而复方制剂 B、C 经连续投喂 21 天起, 对应剂量组草鱼肝胰脏、肾脏逐渐呈现不同程度的病变。综上所述, 即使完全符合允饲要求的天然植物品种, 天然植物产地因素稳定是前提(Yu *et al.*, 2015), 同时也必须经过基于较可靠的评价维度试验证明具有使用安全性, 方可进一步推广应用, 否则将容易出现允饲天然植物在效果表达的同时, 间接潜在诱发组织病变的巨大风险。

## 参 考 文 献

- 王吉桥, 孙永新, 张剑诚, 2006. 金银花等复方草药对牙鲆生长、消化和免疫能力的影响. 水产学报, 30(1): 90—96
- 王春清, 吕树臣, 张克勤等, 2014. 复方中草药添加剂对细鳞鱼生长性能的影响. 中国兽医杂志, 50(2): 83—84
- 艾春汉, 邹金虎, 喻运珍等, 2009. 6 种中药对鲫非特异性免疫效果的影响. 淡水渔业, 39(1): 76—79
- 石英, 冷向军, 李小勤等, 2008. 杜仲叶提取物对异育银鲫生长、血清非特异性免疫和肌肉品质的影响. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 34(2): 200—206
- 伍琴, 唐建洲, 刘臻等, 2015. 牛磺酸对鲫鱼(*Carassius auratus*)生长、肠道细胞增殖及蛋白消化吸收相关基因表达的影响. 海洋与湖沼, 46(6): 1516—1523
- 刘钢, 2005. 复方中草药添加剂对花鲈(*Lateolabrax japonicus*)幼鱼生长、消化吸收和机体生化组成影响的研究. 大连: 大连水产学院硕士学位论文, 1—63
- 刘华忠, 罗萍, 刘定忠, 2004. 复方中草药对彭泽鲫促生长作用的研究. 水利渔业, 24(1): 56—57
- 农业部, 2012. 饲料原料目录. [http://www.moa.gov.cn/zwlml/zcfg/nybgz/201206/t20120614\\_2758749.htm](http://www.moa.gov.cn/zwlml/zcfg/nybgz/201206/t20120614_2758749.htm)
- 李霞, 马驰原, 李雅娟等, 2011. 中草药对牙鲆免疫力的影响. 东北农业大学学报, 42(3): 60—67
- 杨丽蓉, 2002. 知母的化学成分及药理作用研究进展. 国外医学中医中药分册, 24(4): 207—210
- 邱小琼, 周洪琪, 刘小刚等, 2002. 中草药添加剂对异育银鲫生长和蛋白质消化吸收的影响. 水产学报, 26(6): 551—555
- 冷向军, 孟晓林, 李家乐等, 2008. 杜仲叶对草鱼生长、血清非特异性免疫指标和肉质影响的初步研究. 水产学报, 32(3): 434—440
- 国家药典委员会, 2010. 中华人民共和国药典(一部). 北京: 中国医药科技出版社, 96—97
- 罗庆华, 贺建华, 刘清波等, 2007. 杜仲大蒜复方添加剂对草鱼免疫力的影响. 安徽农业科学, 35(28): 8910—8911, 8932
- 姚红梅, 肖克宇, 钟蕾, 2005. 饲料中添加杜仲提取物养殖奥尼鱼的试验. 淡水渔业, 35(2): 34—37
- 秦志华, 董文宾, 姜令绪等, 2015. 紫锥菊提取物对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)的非特异性免疫功能的影响. 海洋与湖沼, 46(3): 665—669
- 涂永锋, 宋代军, 2004. 鱼类肠道组织结构及其功能适应性.

- 江西饲料, (4): 16—19
- 陶健芳, 刘来亭, 牛慧军等, 2007. 白头翁对草鱼免疫功能指标的影响. 饲料研究, (3): 52—54
- Jian J C, Wu Z H, 2004. Influences of traditional Chinese medicine on non-specific immunity of Jian Carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). Fish & Shellfish Immunology, 16(2): 185—191
- Jin Z L, Gao N N, Xu W Z *et al*, 2016. Receptor and transporter binding and activity profiles of albiflorin extracted from *Radix paeoniae Alba*. Scientific Reports, 6: 33793
- Liu B, Li C P, Wang W Q *et al*, 2016. Lignans extracted from *Eucommia Ulmoides* Oliv. protects against AGEs-induced retinal endothelial cell injury. Cellular Physiology and Biochemistry, 39(5): 2044—2054
- Xu H J, Jiang W D, Feng L *et al*, 2016a. Dietary vitamin C deficiency depressed the gill physical barriers and immune barriers referring to Nrf2, apoptosis, MLCK, NF- $\kappa$ B and TOR signaling in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) under infection of *Flavobacterium columnare*. Fish & Shellfish Immunology, 58: 177—192
- Xu J, Feng L, Jiang W D *et al*, 2016b. Effects of dietary protein levels on the disease resistance, immune function and physical barrier function in the gill of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) after challenged with *Flavobacterium columnare*. Fish & Shellfish Immunology, 57: 1—16
- Yu J, Wang Y, Peng L *et al*, 2015. Genetic diversity and population structure of *Eucommia ulmoides* Oliver, an endangered medicinal plant in China. Genetics and Molecular Research, 14(1): 2471—2483

## THE EFFECT OF BOTANICAL PREPARATIONS ALLOWED FEEDING ON THE TISSUE MORPHOLOGY AND GROWTH PERFORMANCE OF GRASS CARP *CTENOPHARYNGODON IDELLUS*

HUANG Jin-Lu<sup>1,2</sup>, LI Ai-Hua<sup>1</sup>, QIAN Xue-Qiao<sup>2</sup>, TAN Xiao-Chen<sup>2</sup>, WANG Zheng-Kai<sup>2</sup>

(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. Animal Husbandry and Fisheries Research Center of Guangdong Haid Group Co., Limited, Guangzhou 511400, China)

**Abstract** Botanical preparation A, B and C have been reported to have immunostimulating effects in grass carp *Ctenopharyngodon idellus*. However, toxic response of grass carp to botanical preparation A, B and C has not been evaluated yet. The aim of the study was to analyze the effects of botanical preparation A, B and C on histological changes and growth performances in grass carp. Two-year-old grass carps were randomized into 14 groups; the 2 control groups were fed with commercial diet at a feeding rate of 3% body weight per day, while 12 experimental groups were fed with feed supplemented with 2% or 4% botanical preparation A, B, C at the same feeding rate. Tissues of hepatopancreas, spleen, kidney and intestine from the corresponding experimental groups were sampled on 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup> and 28<sup>th</sup> day post feeding for histological analysis. And 10 grass carps of each group were dissected to estimate the condition factor, weight gain rate, specific growth rate, organ index and intestinal bearing capacity on the 0<sup>th</sup> and 29<sup>th</sup> post feeding. Results show that botanical preparation A, B, C had little effect on the condition factor, weight gain rate, specific growth rate, organ body ratio and intestinal bearing capacity of grass carp. On histology, tissues of grass carps fed with botanical preparation A showed no pathological changes, while the hepatopancreas and kidney of botanical preparation B and C exhibited different degrees of pathological lesions after 21 days feeding. In conclusion, botanical preparation A is safe to be used as an feed additive. Results suggest that safety evaluation of botanical preparations is required before use, even though they fully meet the requirements.

**Key words** plant feed additives; botanical preparation; grass carp *Ctenopharyngodon idellus*; tissue morphology; growth performance; safety