

鸡血藤和甘草制剂对金鱼及泥鳅急性毒性的研究

宋艳东, 刘 青, 赵恒寿

(山西农业大学 动物科技学院, 山西 太谷 030801)

摘要:为了探究不同浓度鸡血藤(*Caulis spatholobi*)和甘草(*Radix glycyrrhizae*)制剂对不同鱼类的急性毒性,参照预试验结果将鸡血藤和甘草制剂分别添加至养殖水中,5个浓度梯度分组放养金鱼和泥鳅,每隔12 h观察死亡数并计数,96 h结束试验,分析鸡血藤和甘草对金鱼和泥鳅半致死浓度和安全浓度。结果表明:两种药物对金鱼的急性毒性为甘草>鸡血藤,对泥鳅的毒性为甘草<鸡血藤;两种鱼类对鸡血藤和甘草的耐受性为金鱼>泥鳅。鸡血藤对金鱼和泥鳅的半致死浓度和安全浓度分别为2.539 0、1.655 0 g·L⁻¹和0.253 9、0.165 5 g·L⁻¹;甘草对金鱼和泥鳅的半致死浓度和安全浓度分别为2.201 0、1.842 0 g·L⁻¹和0.220 1、0.184 2 g·L⁻¹。

关键词:鸡血藤;甘草;金鱼;泥鳅;急性毒性;半数致死浓度

中图分类号:S965.1;R285

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)10-0065-04

研究开发安全有效的观赏鱼增色剂是我国观赏鱼业发展中亟待解决的问题,相关研究表明,在饲料中添加一定量添加剂对鱼体色有明显恢复或者增色效果。多种中草药,如黄连、甘草、槐花、鸡血藤、栀子、橘皮、黄花菊、红花和刺黄连等都含有胡萝卜素和叶黄素,可以尝试有色中草药作为动

物食品增色剂。鸡血藤(*Caulis spatholobi*)是豆科崖豆藤属植物,生长于海拔2 500 m的地区,在越南、老挝以及我国陕西省到海南省等多地分布^[1]。鸡血藤为活血化瘀中药,其性温,味苦、甘,有补血、活血、通络的功效,可治疗面神经麻痹、经行身痛及便秘等^[2-5]。甘草(*Glycyrrhiza uralensis*),多年生草本植物,属豆科,药用部位为根及根茎,是一种补益中草药,主治清热解毒、祛痰止咳、脘腹等^[6]。鸡血藤和甘草两者水提溶液分别为深棕红色和浅黄色,试验选取这两种药物进行鱼类的急性毒性测试。

关于鸡血藤和甘草的急性毒性试验的报道相对较少,仅有的报道也来自于鸡血藤^[7]和甘草^[8]对机体毒副作用的研究,两者对鱼类的急性毒性

收稿日期:2014-05-23

基金项目:山西省高等学校大学生创新创业训练资助项目(2013081);山西农业大学科技创新基金资助项目(20132-22);山西水产研究所、山西省水产技术推广站与山西农业大学横向课题资助项目(2013HX86,2013HX102)

第一作者简介:宋艳东(1989-),男,山西省平顺县人,学士,从事动物营养与饲料研究。E-mail:sxasyd@163.com。

通讯作者:刘青(1980-),男,安徽省亳州市人,讲师,博士,从事水产动物健康养殖与育种研究。E-mail:liuqing_sxau@126.com。

Difference Comparison of Livestock Production of Typical Counties on N42°~44° of Xinjiang

WANG Hui, MA Yong-ren, LI Jie

(Institute of Science and Technology Information, Animal Sciences Academy of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi, Xinjiang 830000)

Abstract: In order to define livestock production status of typical counties in Xinjiang, difference of livestock production was analyzed, the main problems of animal husbandry development of the latitude belt were concluded, such as investment leads to low level of scale, specialization, low coverage, insufficient bred ability, agriculture industry chain was short, leading enterprises driving ability was weak, leading enterprises should be cultivated actively, livestock for engineering construction should be promote vigorously and try the best for the organic livestock product engineering construction and innovation, thinking and suggestion of the development of animal husbandry of financing mechanism.

Key words: latitudes; animal husbandry; differences

研究也尚未见报道。因此,该试验以金鱼和泥鳅作为试验证物,研究甘草和鸡血藤两种药物对鱼类的急性毒性,以期获得两种药物对金鱼和泥鳅的半致死浓度,并进行相关的安全浓度评价。为甘草和鸡血藤的毒性机理研究提供依据,为金鱼和泥鳅以及其它有色水产动物健康养殖提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

金鱼和泥鳅购自太原万柏林花鸟鱼市场,金鱼平均体长 5.60 cm,体重 6.70 g,泥鳅平均体长 9.20 cm,体重 0.94 g,试验鱼在实验室水族箱内暂养 7 d 后进行试验,选体格健康、活力良好的作为试验用鱼。

鸡血藤和甘草购于太谷县广誉药店,经晋中市第二人民医院中药师穆建军鉴定为正品。经粉碎机粉碎之后过 60 目筛,制成蒸馏水提取液。

供试仪器设备主要有电子分析天平、电子天平、中药粉碎机、养殖水箱、充气泵、抽滤机、烧杯、直尺、温度计及纱布等。

1.2 方法

试验于 2013 年 4~6 月进行,试验用水为充分曝气 24 h 的自来水,水温为 $(21 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, pH 7.2~7.5,水量 2 000 mL,溶氧为 $6.0 \sim 6.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,试验在塑料水箱中进行,试验期间持续充气,不投喂饵料。每组 10 条金鱼,10 条泥鳅,各组设 3 个平行组。

1.2.1 鸡血藤和甘草制剂提取液的制备 将鸡血藤用中草药粉碎机磨成粉状,并过 60 目筛滤下鸡血藤粉末,收集保存。先加 8 倍蒸馏水静置一夜,取上清液抽滤,之后再加 400 mL 蒸馏水,用纱布过滤再抽滤。合并浸提液,计算生药含量。

1.2.2 试验鱼的暂养以及浸泡试验 参照静水法生物测试^[9],试验期间不更换药液,持续充气。为排除饲料的影响,试验期间不喂食。根据预试验结果鸡血藤和甘草各按等对数级数设 5 个浓度组及一个空白对照组(见表 1)。每一浓度组放入 10 条金鱼和 10 条泥鳅,观察其行为中毒症状和死亡现象。中毒后,经多次刺激后,置入清水中,如果 30 min 无反应则判定为死亡,及时从水中捞出死亡个体。通过记录各试验组鱼 12、24、48 和 96 h 的死亡数,参照改良寇氏公式计算得出两种药物相应时段的半致死量浓度(LC_{50}),采用常规方法计算安全浓度(SC),即按 96 h 的 $\text{LC}_{50} \times 0.1$ 计算安全浓度。计算时,各组将试验液浓度转换

成浓度对数,数据采用 Excel 软件进行统计,按照寇氏改良公式计算,将各浓度组平均死亡百分数(见表 1 和表 2)列表计算,得出甘草和鸡血藤对泥鳅和金鱼 96 h 的半致死浓度 LC_{50} ,安全浓度 $\text{SC} = 0.1 \times \text{LC}_{50}$ ^[10]。

2 结果与分析

2.1 鸡血藤对金鱼的毒性效应

金鱼进入鸡血藤药液,初表现为烦躁不安,沿水族箱四周急速游动,向上跳跃,呼吸频率加快,逐渐失去平衡,丧失游泳能力,最后出现麻痹状态,侧卧于水面,并且随着试液中毒物质浓度的增大,出现上述症状的鱼数量增多。身体侧卧,游动失去平衡,随后浮于水面不动,但对于外界刺激仍有反应,用玻璃棒触动鱼体后,鱼鳍摆动,偶做冲刺。死亡时眼球突出,嘴张大,身体僵直。对死亡的金鱼做解剖观察,发现其鳃丝充血,体色变浅,呈灰白色,体表分泌大量粘液。对照组所有鱼在整个试验过程中游动正常,而试验组鱼随着鸡血藤浓度的升高,中毒症状越来越明显,对照组在整个试验过程中无死亡。在 $1.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下鱼体可耐受,虽有一些中毒症状出现但未出现死亡;当浓度达到 $1.77 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,部分试验鱼对有毒成分的排除量低于进入鱼体的量,最终累计毒物浓度超过其耐受范围而出现死亡,随着浓度进一步提高,各时段死亡个体增多,相应累计死亡率也逐步由 20% 上升到 100%。

2.2 鸡血藤对泥鳅毒性效应

泥鳅进入鸡血藤药液后,体色变得暗淡无光泽,鱼体消瘦,游动时只晃头部,不动身子,鱼鳞间或局部有红肿、溢血点或溃疡点,鱼鳍充血,周身鳞片竖立,腹部两侧鳞片出现脱落现象,尾鳍末端有腐烂现象。初时表现为烦躁不安,沿水族箱四周急速游动,身体侧卧,游动失去平衡,随后浮于水面不动,但对于外界刺激仍有反应;死亡时眼球突出,口张大,身体僵直。对死亡的泥鳅做解剖观察,发现其鳃丝充血,体色变浅,呈灰白色,体表分泌大量粘液。由于泥鳅体表鳞片薄且细小,药物相对容易进入鱼体,因此在 $1.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下已经有部分鱼体出现中毒死亡;当浓度达到 $1.77 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,试验鱼对有毒成分的排除低于进入鱼体的药量,其致毒效果与 $1.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 相当,两组死亡率均为 50%,随着浓度进一步提高,进入鱼体药物量差异也增大,各时段死亡个体增多,相

应累计死亡率也逐步由 50% 上升到 100%。

表 1 鸡血藤组金鱼和泥鳅 96 h 死亡率比较

Table 1 Goldfish and loach Mortality of different concentrations of millettia after 96 hours

项目 Items	鸡血藤制剂浓度/g·L ⁻¹ Concentration of millettia					
	0	1.25	1.77	2.50	3.50	5.00
金鱼死亡率/% Goldfish mortality	0	0	20	40	80	100
泥鳅死亡率/% Loach mortality	0	50	50	70	90	100

2.3 甘草对金鱼毒性效应

金鱼进入甘草药液后,初时表现为烦躁不安,急窜、急游、打转,久浮水面不下沉或沉于水底不上浮,还有鱼体蹭箱壁或侧卧,倒立水中反应剧烈,身体侧卧,游动失去平衡,随后浮于水面不动,但对于外界刺激仍有反应;中毒症状主要表现出浮躁不安、上下蹿动、浮头及反应迟钝等症状,接近死亡鱼口和鳃盖闭合,呼吸缓慢,最后滞于水底,失去平衡、死亡。死鱼体表和鳃部粘液多,鳃丝淤血且边缘发白,在死鱼的背部表面有明显的粘液薄膜。甘草试液中金鱼在低浓度组中 96 h 死亡率为 20%,1.77 和 2.50 g·L⁻¹ 浓度组死亡率上升至 40%,或由于试验鱼对有毒成分的排除能力低于进入鱼体的药量,二者致毒效果相当,随着浓度进一步提高,进入鱼体药量差异也增大,各时段死亡个体增多,相应累计死亡率也逐步上升到 100%。

2.4 甘草对泥鳅毒性效应

泥鳅进入甘草药液后,初时表现为来回游动,

呼吸困难,骚动不安,开始出现撞壁,明显失去平衡,离群,呆浮水中或水底,背鳍不挺,胸鳍无力少动,尾鳍无力下垂。随后浮于水面不动,但对于外界刺激仍有摆鳍、身体扭动等微弱反应;死亡时眼球突出,口张大,身体僵直。对死亡的泥鳅检查,可见鳃丝充血,体色发灰白色,体表分泌大量粘液。在试验组中,试验鱼随着甘草制剂处理时间增长和处理浓度的增高,死亡率也随之升高。对照组中试验鱼游动正常,无死亡现象出现。3.50 g·L⁻¹ 浓度组之前泥鳅死亡率高于金鱼,主要是由于鳃、皮肤渗透差异造成;药物浓度从 2.50 g·L⁻¹ 升高一个对数浓度差至 3.50 g·L⁻¹ 金鱼死亡率出现了跃变,而泥鳅死亡率平稳,可能因为在这两个相邻浓度组中泥鳅对药物排除能力高于金鱼。

表 2 甘草组金鱼和泥鳅 96 h 死亡率分析

Table 2 Analysis on goldfish and loach mortality of different concentrations of liquorice after 96 hours

项目 Items	甘草制剂浓度/g·L ⁻¹ Concentration of liquorice					
	0	1.25	1.77	2.50	3.50	5.00
金鱼死亡率/% Goldfish mortality	0	20	40	40	80	100
泥鳅死亡率/% Loach mortality	0	40	50	70	70	100

两种药物对两种鱼类的半数致死浓度及安全浓度估算值见表 3。

表 3 鸡血藤和甘草对金鱼和泥鳅 96 h 半数致死量和安全浓度分析

Table 3 Analysis on LC₅₀ and SC of millettia and liquorice to goldfish and loach after 96 hours

项目 Items	金鱼 Goldfish		泥鳅 Loach	
	鸡血藤 Millettia	甘草 Liquorice	鸡血藤 Millettia	甘草 Liquorice
半数致死浓度/g·L ⁻¹ LC ₅₀	2.5390	2.2010	1.6550	1.8420
安全浓度/g·L ⁻¹ SC	0.2539	0.2201	0.1655	0.1842

3 结论与讨论

3.1 金鱼和泥鳅对甘草和鸡血藤的敏感性

据报道,不同鱼类对同一种毒物的敏感性存在差异^[11-12]。同样泥鳅和金鱼对甘草与鸡血藤的敏感性也存在差异,同时水生动物的规格、生命阶段及健康状况等诸多生物因素均会对二者的敏感性产生影响。此外温度、水的硬度和氯离子含量等也均会对水生生物的毒性效应产生影响。该

研究表明,金鱼对两种药物的耐受性要大于泥鳅,泥鳅对两种药物更为敏感。可能是泥鳅个体稍小于金鱼,其机体对蓄积毒物的排除能力弱于个体稍大的金鱼;同时由于泥鳅鳞片过小而单薄,进入体内的毒物要比鳞片大而厚实的金鱼快,还有体型的差异导致泥鳅的比表面积相对较大,因此造成两种鱼对甘草和鸡血藤的敏感性有所差异。就金鱼而言,试验条件下甘草的毒性比鸡血藤毒性

大;就泥鳅而言,试验条件下鸡血藤的毒性比甘草的毒性大。

3.2 甘草和鸡血藤对金鱼和泥鳅急性毒性

鸡血藤的有效成分主要有黄酮类、萜类、甾醇类、蒽醌类、内酯类、苷类及其它类型化合物^[13],关于黄酮类化合物研究最多,其中含有的鱼藤酮也属于二氢异黄酮的衍生物,具有较强的杀虫和毒鱼作用。而甘草的有效成分主要含三萜皂甙类化合物^[14]:甘草酸、甘草次酸、甘草甜素、乌拉尔甘草皂甙 A、B 和甘草皂甙 A3、B2、C2、D3、E2、F3、G2、H2、J2、K2 等;黄酮类化合物:甘草甙元、甘草甙、异甘草甙元、异甘草甙和刺芒柄花素等^[15]。三萜皂苷往往含有羧基,又称为酸性皂苷,试验过程中甘草制剂组随着充气有大量类似肥皂泡的泡沫产生,为三萜皂苷形成,因其与甾体皂苷相同,也具有溶血、毒鱼及毒贝作用,从而使金鱼和泥鳅中毒而死亡。从该试验结果推断金鱼和泥鳅的中毒症状是由于甘草的三萜皂苷类(如乌拉尔甘草皂甙 A、B 和多种甘草皂甙)和鸡血藤中的黄酮类化合物(如鱼藤酮)引起,具体成分有待进一步试验研究。

从试验结果和分析得出,两种药物浸泡对金鱼的急性毒性为甘草>鸡血藤,对泥鳅的毒性为甘草<鸡血藤;两种鱼类对鸡血藤和甘草的耐受性为金鱼>泥鳅。

参考文献:

[1] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典[M]. 北京:中

国农业出版社,2006:193.

- [2] 陈晓军. 鸡血藤的药理作用研究综述[J]. 中国民族民间医药,2009(13):3-5.
- [3] 陈道峰,徐国钧,徐珞珊,等. 鸡血藤的性状鉴定[J]. 中药材,1993,16(8):21-23.
- [4] 崔艳君,陈若芸. 鸡血藤化学和药理研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2002,15(4):72-78.
- [5] 唐勇,何薇,王玉芝,等. 鸡血藤黄酮类组分抗肿瘤活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(2):51-54.
- [6] 王彩兰,韩永生,王艳,等. 甘草的调和诸药及解毒作用探讨[J]. 微量元素与健康研究,1996,13(3):31-32.
- [7] 梁宁,温海成,陆惠燕,等. 壮药鸡血藤提取物毒性作用及体外抗肿瘤作用的实验研究[J]. 中国民族医药杂志,2010,9(9):3-4.
- [8] 张瑞梅. 甘草的不良反应特点与配伍毒性分析[J]. 河北中医,2012,34(7):1055-1056.
- [9] 吴邦灿,费龙. 现代环境监测技术[M]. 北京:中国环境科学出版社,1999:252-254.
- [10] 刘家国,胡元亮,陈玉库,等. 几种天然药物成分在体外 CEF 中最大安全浓度的测定[J]. 动物医学进展,2002,23(3):88-91.
- [11] 惠秀娟. 环境毒理学[M]. 北京:化学工业出版社,2003:266-276.
- [12] 熊治延. 环境生物学[M]. 武汉:武汉大学出版社,2000:132-137.
- [13] 崔艳君,刘屏,陈若芸. 鸡血藤化学成分研究[J]. 药学报,2002,37(10):784.
- [14] 黄宇玲. 从甘草中提取甘草甜素[J]. 广州食品工业科技,1997,13(3):16-17.
- [15] 邱招钗. 甘草酸的新型提取与精制方法概述[J]. 福建分析测试,2004,13(3):2058-2062.

Research on Acute Toxicity of *Caulis spatholobi* and *Radix glycyrrhizae* to Goldfish and Loach

SONG Yan-dong, LIU Qing, ZHAO Heng-shou

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801)

Abstract: Aiming at detecting the acute toxicity of different concentrations of millettia (*Caulis spatholobi*) and liquorice (*Radix glycyrrhizae*) preparations to goldfish and loach. Under the premise of the pre-test, two kinds of fish were divided into five groups with different concentration of millettia and liquorice. The death numbers of each group were observed and recorded every 12 hours. At the end of the experiment (96 hours), the half lethal concentrations (LC₅₀) and safe concentration of millettia and liquorice on goldfish and loach were analyzed. The results showed that acute toxicity of liquorice for goldfish was higher than millettia. Conversely, acute toxicity of liquorice for loach was lower than millettia. Further more, the toleration of goldfish to millettia and liquorice was higher than that of loach. The individual half lethal concentrations and safe concentrations of millettia on goldfish and loach were 2.539 0, 1.655 0 g·L⁻¹ and 0.253 9, 0.165 5 g·L⁻¹. Meanwhile, the half lethal concentrations and safe concentrations of liquorice on goldfish and loach were 2.201 0, 1.842 0 g·L⁻¹ and 0.220 1, 0.184 2 g·L⁻¹ individually.

Key words: millettia (*Caulis spatholobi*); liquorice (*Radix glycyrrhizae*); goldfish; loach; acute toxicity; LC₅₀