

## 比较岩藻黄素·灵芝孢子粉和黑枸杞对小鼠酒精性脂肪肝的影响

臧瑾, 何钊\* (江南大学食品学院, 江苏无锡 214122)

**摘要** [目的]探讨岩藻黄素、灵芝孢子粉和黑枸杞对小鼠酒精性脂肪肝的作用。[方法]建立 NIAAA 小鼠酒精肝模型。将 10 周龄 C57BL/6 小鼠按照随机分配原则平均分为 5 组, 对照组喂食正常液体饲料, 模型组和试验组喂食 5% 酒精液体饲料, 试验组在饲料中分别添加 100 mg/(kg·d) 岩藻黄素、500 mg/(kg·d) 灵芝孢子粉和 500 mg/(kg·d) 黑枸杞。取肝脏组织称重, 比较各组小鼠的肝脏系数, 取部分肝脏组织进行病理组织切片观察形态, 采用商业试剂盒对小鼠血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)和肝脏中 TG 含量进行检测。[结果]与模型组相比, 岩藻黄素抑制了酒精造成的脂肪变性, 降低了血清中 ALT、AST、TG 和肝脏中 TG 含量; 灵芝孢子粉有效地缓解了血清中 ALT、AST 含量的升高, 但没有有效抑制酒精造成的脂肪变性; 而黑枸杞减轻了酒精造成的脂肪变性, 但没有显著缓解血清中 ALT、AST 的升高。[结论]相较于灵芝孢子粉和黑枸杞, 岩藻黄素可以对酒精造成的肝损伤和脂肪变性起到更好的保护作用。

**关键词** 酒精性脂肪肝; 岩藻黄素; 灵芝孢子粉; 黑枸杞

**中图分类号** S865.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)16-0097-05

### Comparison of the Effects of Fucoxanthin, *Ganoderma lucidum* Spore Powder and *Lycium ruthenicum* on Alcoholic Fatty Liver in Mice

ZANG Jin, HE Zhao\* (School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122)

**Abstract** [Objective] The research aimed to discuss the effects of fucoxanthin, *Ganoderma lucidum* spore powder and *Lycium ruthenicum* on alcoholic fatty liver in mice. [Method] NIAAA mouse alcohol liver model was established. 10 week-old male C57BL/6 mice were randomly divided into control group, model group, 100 mg/(kg·d) fucoxanthin group, 500 mg/(kg·d) *Ganoderma lucidum* spore powder group and 500 mg/(kg·d) *Lycium ruthenicum* group. At the end of experiments, liver tissue was weighed, liver index of each group was compared, and some liver tissues were taken for histopathological observation. The contents of serum alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), triglyceride (TG), cholesterol (TC), liver triglyceride (TG) were measured by the commercial kit. [Result] Compared with the model group, fucoxanthin inhibited the alcohol-induced steatosis and reduced the contents of serum ALT, AST, TG and liver TG. *Ganoderma lucidum* spore powder to effectively relieve the serum ALT, AST content increased, but did not effectively inhibit the alcohol-induced steatosis. While *Lycium ruthenicum* suppressed alcohol-induced steatosis, but did not significantly alleviate the serum ALT, AST increased. [Conclusion] Compared with *Ganoderma lucidum* spore powder and *Lycium ruthenicum*, fucoxanthin can cause alcohol damage and steatosis to play a better protective effect.

**Key words** Alcoholic fatty liver; Fucoxanthin; *Ganoderma lucidum* spore powder; *Lycium ruthenicum*

过度饮酒是当今世界范围内面临的一个重要难题, 它不仅危害家庭和社会, 且对嗜酒者的身体健康造成了极大的威胁。酒精在人体内的代谢主要依赖于肝脏, 而过度饮酒易导致肝脏损伤<sup>[1]</sup>。酒精性肝病(Alcoholic liver disease, ALD)是临床中比较常见的现象, 其主要形成原因有脂肪变性、氧化应激、炎症因子增加及线粒体功能障碍等<sup>[2]</sup>。目前, 酒精性肝病的致病机制尚未阐明, 研究认为酒精代谢过程中产生的有害代谢产物和氧化应激反应在诱发酒精性肝病的形成中起重要作用<sup>[3]</sup>。现有临床治疗仅停留于对 ALD 病情的缓解和营养补充层次, 因此对酒精性肝损伤的预防显得尤为重要。

岩藻黄素(Fucoxanthin)是一种脂溶性的天然类胡萝卜素, 具有很长的共轭双键, 并含有丙二烯、乙酰基和环氧烷的特殊分子结构<sup>[4]</sup>。岩藻黄素可以调节 UCPI 在脂肪组织中的表达, 促进脂肪分解, 从而达到肥胖模型小鼠减肥的效果<sup>[5]</sup>。Woo 等<sup>[6]</sup>研究显示, 岩藻黄素可以减少高脂症小鼠肝脏中脂肪的含量。灵芝孢子粉(*Ganoderma lucidum* spore powder)具有灵芝的全部遗传活性物质, 主要有效成分除多糖类、三萜类、肽类外, 还含有比灵芝更丰富的多糖肽、腺嘌呤核苷、蛋白质、酶类、硒元素等特殊成分<sup>[7]</sup>。研究证实, 灵芝对四氯化碳诱导的肝损伤<sup>[8]</sup>、半乳糖胺诱导的肝脏毒性<sup>[9]</sup>、黄疸诱发的肝脏损伤<sup>[10]</sup>、硫代乙酰胺诱发的肝纤维化<sup>[11]</sup>均有不同程度的保护作用。黑枸杞(*Lycium ruthenicum*)是一种珍贵的药食两用植物, 含有大量的原花青素、花青素、多糖等<sup>[12]</sup>。已有研究证明, 黑枸杞具有抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、清除自由基等作用<sup>[13]</sup>。因此, 该研究从抗氧化和炎症机理以及脂质代谢等方面, 探讨岩藻黄素、灵芝孢子粉和黑枸杞对于酒精性脂肪肝是否具有保护作用, 旨在为酒精性脂肪肝这种慢性疾病筛选出有效的饮食。

1 材料与方法

#### 1.1 材料

**1.1.1 主要试剂。**黑枸杞(青海诺蓝杞生物科技发展有限公司, 中国); 破壁灵芝孢子粉(贵州吉仁堂药业有限公司, 中国); 岩藻黄素(武汉大华伟业医药化工有限公司, 中国); 99% 药用酒精(上海阿拉丁生化科技有限公司, 中国); 油红 O(Sigma, 美国); H&E 染料(南昌雨露甘露医疗耗材, 中国); 甘油三酯(TG)试剂盒(K614-100)(BioVision, 美国); 组织切片所需耗材, 如载玻片、盖玻片等(南通海之星实验器材有限公司, 中国); Lieber-DeCarli 液体饲料喂养瓶(南通特洛菲饲料科技有限公司, 中国)。其他常规试剂或耗材均购自江南大学后勤集团设备耗材试剂库。

**1.1.2 主要仪器。**EL-204 型电子分析天平(METTER TO-

**基金项目** 国家自然科学基金项目(31471321)。

**作者简介** 臧瑾(1991—), 女, 河南郑州人, 硕士研究生, 研究方向: 食品与健康。\* 通讯作者, 教授, 博士, 博士生导师, 从事食品营养与代谢疾病研究。

**收稿日期** 2017-03-31

LEDO,美国);1510 Multiscan Go 全波长酶标仪(Thermo Scientific,美国);恒温振荡仪(Eppendorf,德国);恒温水浴锅(Thermo Scientific,美国);XD-202 倒置显微镜(南京掘宇精密仪器有限公司,中国);1150H 型莱卡石蜡包埋机(Leica,德国);PM2245 型莱卡手动轮转切片机(Leica,德国);Panoramic MIDI 数字切片扫描仪(3DHitech,匈牙利);SCIENTZ-48高通量组织研磨机(新芝,中国);ST40R 台式冷冻离心机(Thermo Scientific,美国);SX-500 型灭菌锅(Tomy Seiko,日本);全自动生化分析仪 P800(罗氏诊断,瑞士);Leica CM1950 冷冻切片机(Leica,德国)。

**1.1.3 试验动物。**10 周龄健康雄性 C57BL/6 小鼠 40 只,体重 20~22 g,购自上海市斯莱克实验动物有限公司。

**1.1.4 试验动物饲料。**Lieber-DeCarli 酒精液体模型饲料和对照组液体饲料购自于南通特洛菲饲料科技有限公司。酒精液体模型饲料热量包括酒精热量 36%、脂肪 36%、蛋白质 15%、碳水化合物 13%。对照组液体饲料热量包括酒精热量 0、脂肪 36%、蛋白质 15%、碳水化合物 49%。

## 1.2 方法

**1.2.1 动物模型的建立与分组。**小鼠饲养于 12 h 光照/12 h 黑暗、相对湿度 40%~60%、室温(23±2)℃ 的标准化动物房内,自由采食和饮水,动物适应性饲养 7 d 后进行试验。采用美国国立酒精滥用与酒精中毒研究所(National Institute of Alcohol Abuse and Alcoholism, NIAAA)模型进行试验<sup>[14]</sup>。将小鼠随机分为 5 组:正常对照组(a)、酒精肝造模组(b)、岩藻黄素组(c)、灵芝孢子粉组(d)、黑枸杞组(e),每组 8 只。造模方法如下:按照饲料配方每天配制新鲜饲料置于液体饲料喂养瓶中,每只小鼠准备 20 mL,每天 17:00—18:00 进行换食。首先,a~e 组采用 Lieber-DeCarli 对照液体饲料适应性喂养 5 d,之后,a 组喂食 Lieber-DeCarli 对照液体饲料,b 组喂食 5% 酒精含量 Lieber-DeCarli 酒精液体饲料,c 组喂食 Lieber-DeCarli 酒精液体饲料 + 100 mg/(kg·d) 岩藻黄素,d 组喂食 Lieber-DeCarli 酒精液体饲料 + 500 mg/(kg·d) 灵芝孢子粉,e 组喂食 Lieber-DeCarli 酒精液体饲料 + 500 mg/(kg·d) 黑枸杞。喂养 10 d,每天更换饲料,防止酒精过度挥发。第 16 天 07:00—09:00,正常对照组灌胃 45.0% (m/V) 麦芽糖溶液,剂量为 20 μL/(g·只),剩余 5 组灌胃 31.5% (V/V) 酒精溶液,剂量同上。12 h 后处死小鼠,收集肝脏和血清。

**1.2.2 肝脏系数的测定。**将摘取的新鲜肝脏用生理盐水漂洗,并用滤纸吸干水分后称重,肝脏系数按下式计算:肝脏系数 = 肝重(g)/体重(g) × 100%。

**1.2.3 血清指标测定。**将血液用 3 000 r/min 转速离心 15 min,吸取血清用于测定。血清中谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)活力和总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)含量采用罗氏生化指标检测仪测定。

**1.2.4 肝脏中 TG 测定。**取 100 mg 小鼠肝脏组织放入 EP 管,加入 1 mL 含 5% NP-40 的水溶液,用组织匀浆机研磨 2 次,每次 40 s,然后在 80~100℃ 的水浴中加热 2~5 min,取出

冷却至室温,重复加热 1 次后,高速离心 2 min,取上清用 dH<sub>2</sub>O 稀释 10 倍用于测定。测定原理为甘油三酯转换为自由脂肪酸和甘油,甘油被氧化进而与探针产生颜色反应,最后通过与标准品和空白品的吸光值对比算出样品中 TG 含量。

### 1.2.5 组织处理。

**1.2.5.1 H&E 染色。**取表面无明显破损的新鲜肝组织样品,经 4% 多聚甲醛固定、脱水、石蜡包埋后,制成 5 μm 厚的组织切片,经烤片,脱水后对切片进行染色。切片先于苏木精中染色 10 min,洗涤后再经 0.5% 伊红染色 5 min。再次洗涤后,将切片依次置于 70%、96%、100% 的乙醇及二甲苯中进行脱水和透明。固封后的切片即可置于显微镜下进行观察,随机选取每张切片中的不同视野对肝脏组织脂肪堆积和肝损伤情况进行评价。

**1.2.5.2 油红 O 染色。**取表面无明显破损的新鲜肝组织样品修改到合适体积,在液氮中速冻,用 OCT 胶包埋固定在定制托盘上,采用冰冻切片机在 -20℃ 制成 15 μm 厚的冰冻切片,冰冻切片附贴于载玻片后置于 4% 多聚甲醛固定、冲洗、油红 O 异丙醇饱和溶液染色、冲洗、封片。固封后的切片即可置于显微镜下进行观察,随机选取每张切片中的不同视野对肝脏组织中脂滴状况进行评价。

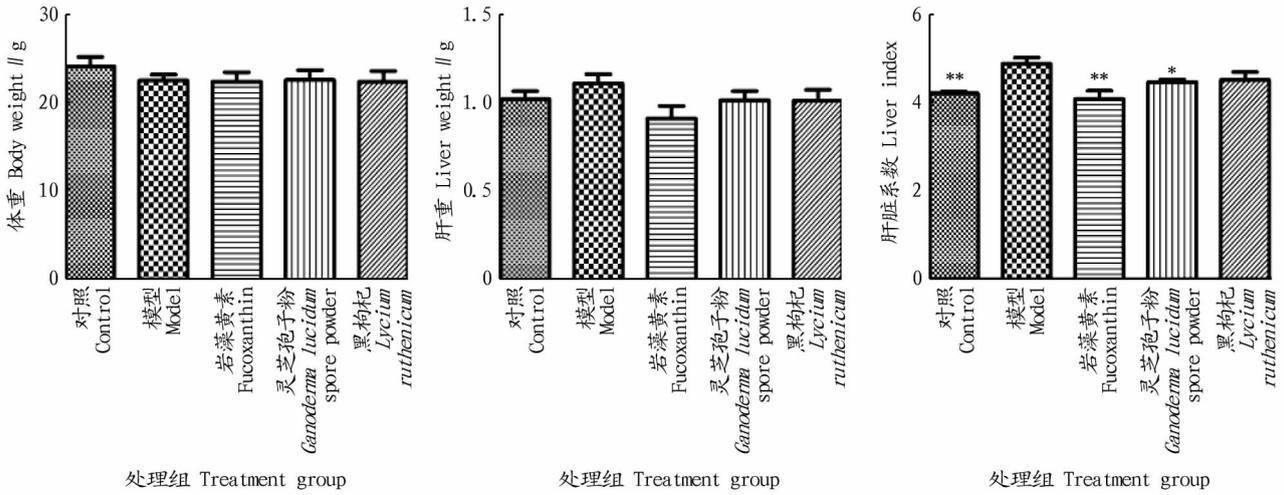
**1.3 统计与分析** 所有数据均用统计软件 SPSS 16.0 进行统计学处理,以 One-way ANOVA 进行显著性检验。

## 2 结果与分析

**2.1 小鼠体重、肝重及肝脏系数** 肝脏系数在一定程度上反映了肝脏的健康与否,当发生病变时往往会引起器官的萎缩或肿胀,从而导致肝脏系数也随之发生变化。从图 1 可以看出,模型组小鼠体重与对照组、试验组各组之间没有明显差异;但模型组小鼠的肝重与肝脏系数较空白组显著增加,说明酒精的摄入会引起肝脏肿胀、变大。相比于酒精模型组小鼠,岩藻黄素和灵芝孢子粉干预组肝脏系数明显降低,说明岩藻黄素和灵芝孢子粉缓解了酒精造成的肝脏肿胀;而黑枸杞对此没有显著的改善作用。

**2.2 血清中 ALT、AST 含量** ALT 和 AST 作为肝细胞内 2 种重要的酶,是诊断肝细胞受损程度最敏感的指标。正常情况下,血清中这 2 种酶的活性很低。当肝细胞受损时,膜通透性增加,这 2 种酶大量渗入血液,使血清中的酶活性显著增加,从而反映出肝细胞的损伤程度。由图 2 可知,与正常对照组比较,酒精肝损伤模型组小鼠血清中 ALT、AST 含量均极显著上升,说明酒精肝损伤模型建模成功。与酒精肝损伤模型组比较,岩藻黄素组小鼠血清中 ALT、AST 含量明显降低,具有显著性差异;灵芝孢子粉组血清中 ALT 含量有显著下降,而 AST 含量没有明显下降趋势;黑枸杞组血清中 ALT、AST 含量没有明显变化。

**2.3 血脂水平** TG 浓度反映了肝细胞内脂肪变性的情况,TG 含量越高,表明肝细胞中由于氧化应激和脂质代谢紊乱引起的脂肪变性越严重。由图 3 可知,模型组小鼠血清中 TG 含量相对于对照组明显升高,岩藻黄素和黑枸杞的干预显著改善了这一现象,灵芝孢子粉对于酒精造成的小鼠血清

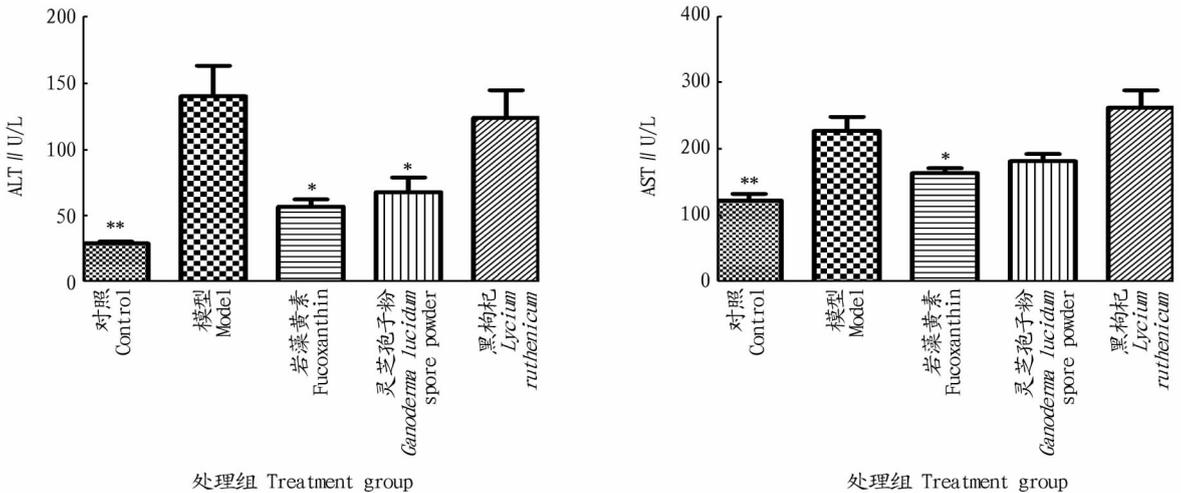


注：\*、\*\* 分别表示与模型组比较差异显著( $P < 0.05$ )、极显著( $P < 0.01$ )

Note: \*, \*\* indicate significant difference ( $P < 0.05$ ) and extreme significant difference ( $P < 0.01$ ) compared with model group, respectively

图1 不同处理对小鼠体重、肝重和肝脏系数的影响

Fig. 1 Effects of different treatments on body weight, liver weight and liver index in mouse



注：\*、\*\* 分别表示与模型组比较差异显著( $P < 0.05$ )、极显著( $P < 0.01$ )

Note: \*, \*\* indicate significant difference ( $P < 0.05$ ) and extreme significant difference ( $P < 0.01$ ) compared with model group, respectively

图2 不同处理对小鼠血清中ALT、AST含量的影响

Fig. 2 Effects of different treatments on ALT and AST content in serum of mouse

中TG含量升高有一定缓解作用,但没有显著性差异。而相比于对照组,模型组和试验组小鼠的血清中TC含量均没有显著变化。

**2.4 肝脏中TG含量** 为了进一步探究酒精对于小鼠肝脏脂质变性的影响,在此检测小鼠肝脏中TG的含量。由图4可知,在酒精性脂肪肝试验中,与对照组相比,模型组肝组织匀浆液中的TG含量显著升高。在饲料中添加岩藻黄素,TG含量明显下降至接近正常水平;饲料中添加黑枸杞的结果与添加岩藻黄素相似;而在饲料中添加灵芝孢子粉,没有显著降低模型组小鼠肝脏中TG含量。

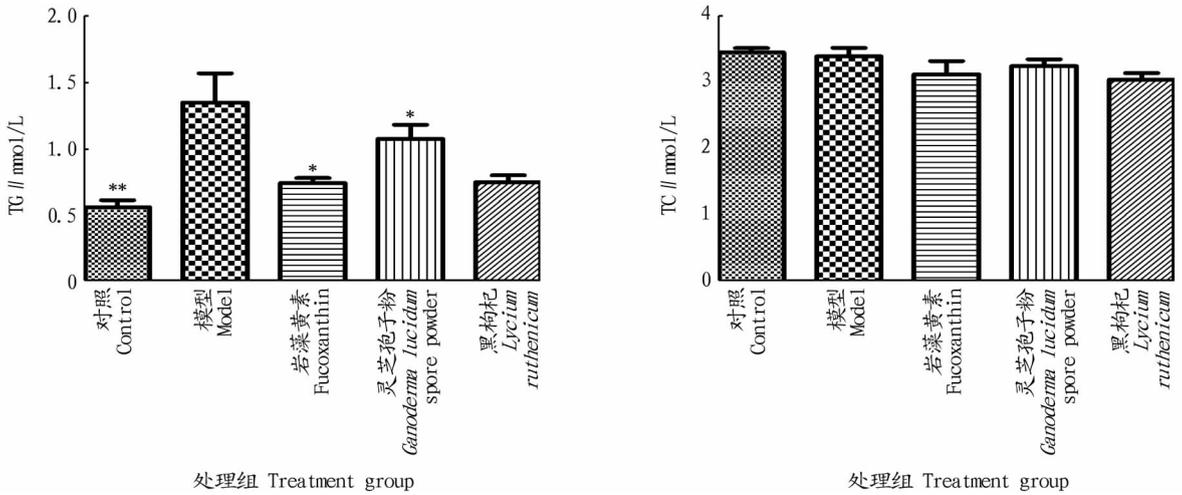
**2.5 小鼠肝组织病理变化** 对肝组织切片进行H&E染色,结果发现(图5),对照组肝细胞索结构完整,呈放射状,肝小叶结构清晰,肝细胞有明显的界线且胞浆均匀,无脂肪空洞和炎性浸润;模型组脂肪变性明显,有大片的脂肪空洞,肝细

胞肿胀变形、胞质浑浊,有网状结构,少数核固缩,出现炎症性细胞浸润;相对于模型组,岩藻黄素组和黑枸杞组脂肪空洞减少,肝细胞肿胀有所缓解,但相对于对照组,依然存在少量脂肪空洞现象;灵芝孢子粉相较于模型组,脂肪空洞现象有轻微减少,脂肪变性相较于对照组更为明显。另外,对小鼠肝脏组织进行冰冻切片和油红O染色,结果发现(图6),模型组肝脏脂滴大且明显,岩藻黄素和黑枸杞的干预显著缓解了这一现象,灵芝孢子粉的干预降低了脂滴大小,但脂滴数量和大小相对于对照组有显著的增多。

### 3 结论与讨论

该研究通过岩藻黄素、灵芝孢子粉和黑枸杞的膳食干预对小鼠酒精造成的肝损伤和脂肪变性的影响进行探究,得出岩藻黄素对小鼠酒精肝有更好的保护作用。

酒精摄入是导致肝损伤的危险因素之一,成为全世界范

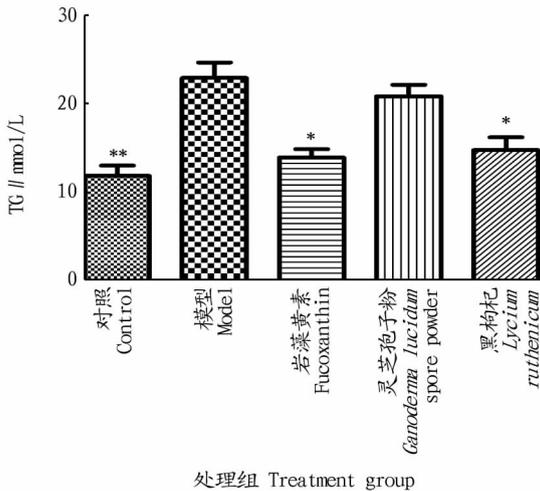


注: \*、\*\* 分别表示与模型组比较差异显著( $P < 0.05$ )、极显著( $P < 0.01$ )

Note: \*, \*\* indicate significant difference ( $P < 0.05$ ) and extreme significant difference ( $P < 0.01$ ) compared with model group, respectively

图3 不同处理对小鼠血清中TG和TC含量的影响

Fig. 3 Effects of different treatments on TG and TC content in serum of mouse



注: \*、\*\* 分别表示与模型组比较差异显著( $P < 0.05$ )、极显著( $P < 0.01$ )

Note: \*, \*\* indicate significant difference ( $P < 0.05$ ) and extreme significant difference ( $P < 0.01$ ) compared with model group, respectively

图4 不同处理对小鼠肝脏中TG含量的影响

Fig. 4 Effects of different treatments on TG content in liver of mouse

围内肝病的主要原因。从脂肪变性、脂肪性肝炎、纤维化到危及生命的肝硬化,酒精性肝病(ALD)是一种极为常见的具有高死亡率的疾病<sup>[15]</sup>。酒精性脂肪肝病(AFLD)是ALD的最早表现,其病理特征在于肝细胞内微泡和大泡脂质积累,轻微炎症反应和无肝纤维化<sup>[16]</sup>。在该试验中,NIAAA酒精肝模型小鼠表现为血清中ALT、AST这2种诊断肝细胞受损程度最敏感的指标显著增加,血清和肝脏中TG含量明显增加,肝脏组织切片表明肝脏脂肪变性明显,有大片的脂肪空洞。最近的研究表明,酒精摄入直接或间接调节脂质代谢相关的转录因子,刺激肝脂肪生成和抑制肝脏中的脂肪酸氧化<sup>[17]</sup>。酒精摄入经过乙醇脱氢酶、乙酸脱氢酶代谢产生大

量活性氧(ROS),肝脏是ROS攻击的主要器官,氧化应激造成了肝脏损失<sup>[18]</sup>。同时,酒精摄入促进了炎症因子的增加和线粒体功能紊乱,从而造成肝损伤和脂肪变性<sup>[19]</sup>。

岩藻黄素作为一种天然类胡萝卜素,近年来人们对其抗氧化作用研究越来越广泛,有研究发现其具有较强的抗氧化活性,优于维生素E和维生素C<sup>[20]</sup>。Heo等<sup>[21]</sup>研究表明,岩藻黄素对 $H_2O_2$ 诱导的细胞损伤具有一定的保护作用,能够显著地减少其过氧化反应。任丹丹等<sup>[22]</sup>研究表明,岩藻黄素不仅具有较强的体外抗氧化活性,对油脂氧化的抑制作用也较为明显。Kim等<sup>[23]</sup>通过研究岩藻黄素对脂多糖诱导小鼠巨噬细胞炎症反应的影响,发现岩藻黄素能够显著抑制炎症细胞活性因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 以及IL-6的释放。Maeda等<sup>[24]</sup>验证了岩藻黄素的减脂作用。该试验发现,岩藻黄素的膳食添加,显著降低了血清中ALT、AST、TG含量,减轻了肝脏组织的脂肪空洞。岩藻黄素对于酒精性脂肪肝存在保护作用,可能是由于它的抗氧化、抗炎和减脂作用。

试验结果表明,灵芝孢子粉对于酒精造成的血清中ALT、AST含量升高有显著缓解作用,但对于肝脏中TG含量升高没有显著作用,肝脏组织切片也证实了这一点。灵芝孢子粉对于酒精造成的肝损伤的保护作用与之前研究相符,对于四氯化碳、半乳糖胺、黄疸诱发的肝脏损伤均发现有不同程度的保护作用。灵芝孢子粉中含有孢子油,这可能是灵芝孢子粉对于肝脏脂肪变性没有保护作用的原因之一。对于黑枸杞的膳食添加,该试验发现其改善了酒精造成的肝脏脂肪变性,但对于酒精造成的血清中ALT、AST含量升高没有显著的缓解作用。Lin等<sup>[25]</sup>研究表明,黑枸杞通过增强AMPK通路的活性,从而缓解肥胖小鼠的脂肪肝现象。对于黑枸杞不能改善酒精造成的肝损伤的原因有待于进一步的研究。

综上所述,岩藻黄素可以有效地改善酒精造成的肝损伤和肝脏脂肪变性,可以对其机理进行进一步研究,为岩藻黄素膳食添加可能会治疗人类酒精性脂肪肝提供依据。

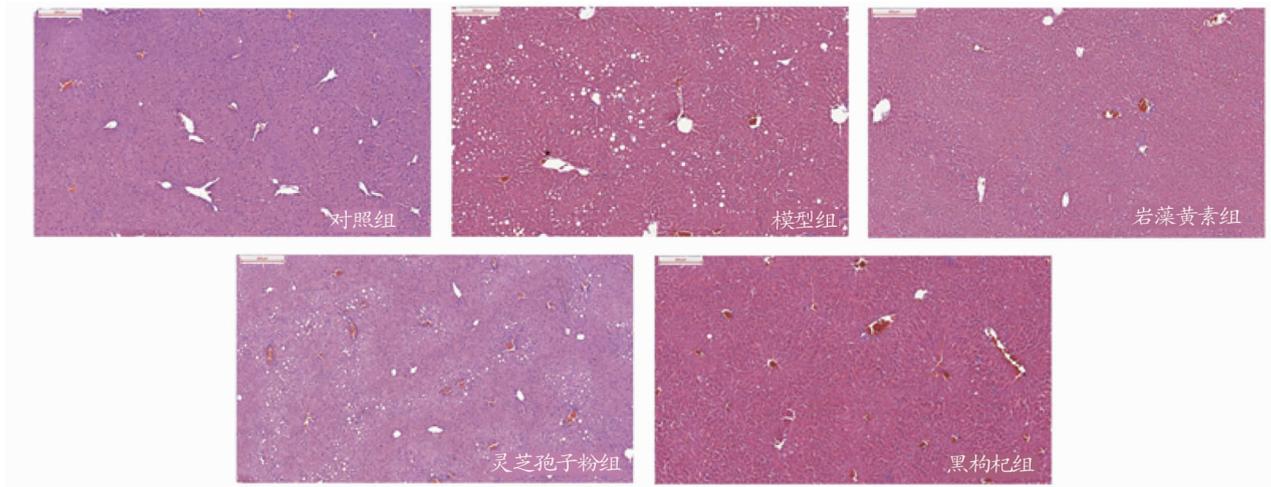


图 5 不同处理组小鼠的肝组织病理切片(HE 染色, 200 ×)

Fig. 5 Histopathological sections of mouse liver in different treatment groups(H&E staining at 200 ×)

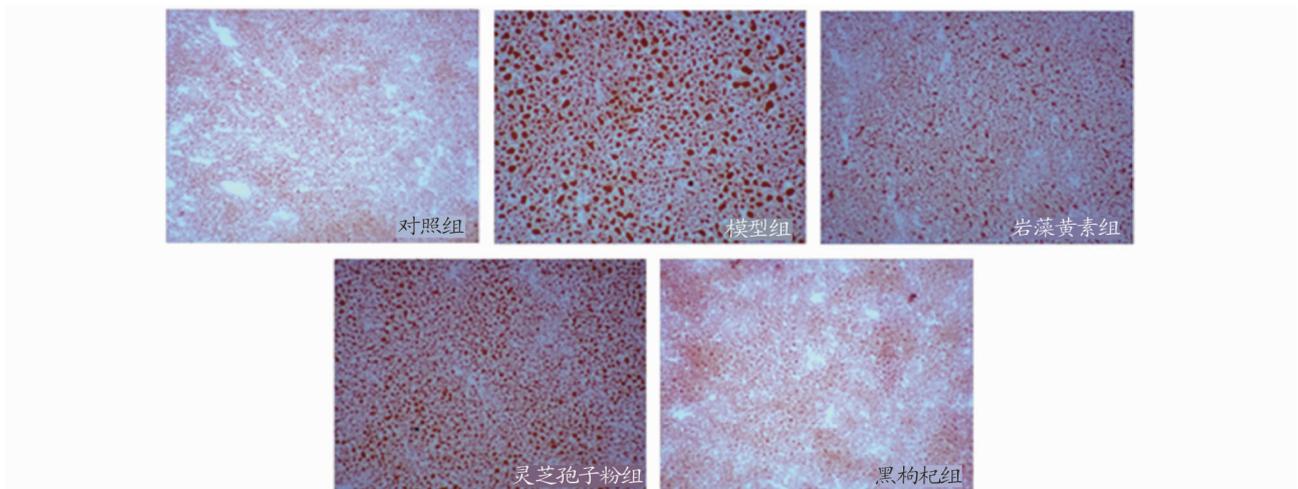


图 6 不同处理组小鼠的肝组织冰冻切片(油红 O 染色)

Fig. 6 Frozen section of mouse liver in different treatment groups(Oil red O staining)

## 参考文献

- [1] O'SHEA R S, DASARATHY S, MCCULLOUGH A J. Alcoholic liver disease[J]. The American journal of gastroenterology, 2010, 105:14 - 32.
- [2] GAO B, BATALLER R. Alcoholic liver disease: Pathogenesis and new therapeutic targets [J]. Gastroenterology, 2011, 141(5): 1572 - 1585.
- [3] 单静喜, 任江. 急性肝损伤研究近况[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(1): 79 - 81.
- [4] HEO S J, JEON Y J. Protective effect of fucoxanthin isolated from *Sargassum siliquastrum* on UV-B induced cell damage[J]. Journal of photochemistry and photobiology B: Biology, 2009, 95(2): 101 - 107.
- [5] 肖策. 海带中岩藻黄质、岩藻甾醇、甘露醇和褐藻糖胶的综合提取纯化工艺研究[D]. 西安: 西北大学, 2008.
- [6] WOO M N, JEON S M, KIM H J, et al. Fucoxanthin supplementation improves plasma and hepatic lipid metabolism and blood glucose concentration in high-fat fed C57BL/6N mice[J]. Chem Biol Int, 2010, 186(3): 316 - 322.
- [7] 彭亮, 赵鹏, 李彬, 等. 破壁灵芝孢子粉对小鼠免疫调节作用的实验研究[J]. 应用预防医学, 2011, 17(4): 241 - 243.
- [8] KIM D H, SHIM S B, KIM N J, et al. Beta-glucuronidase-inhibitory activity and hepatoprotective effect of *Ganoderma lucidum* [J]. Biol Pharm Bull, 1999, 22(2): 162 - 164.
- [9] SHI Y L, SUN J, HE H, et al. Hepatoprotective effects of *Ganoderma lucidum* peptides against D-galactosamine-induced liver injury in mice[J]. Ethnopharmacol, 2008, 117(3): 415 - 419.
- [10] AYDIN S, AYTAC E, UZUN H, et al. Effects of *Ganoderma lucidum* on obstructive jaundice-induced oxidative stress[J]. Asian J Surg, 2010, 33(4): 173 - 180.
- [11] WU Y W, FANG H L, LIN W C. Post-treatment of *Ganoderma lucidum* reduced liver fibrosis induced by thioacetamide in mice[J]. Phytother Res, 2010, 24(4): 494 - 499.
- [12] 陈晨, 赵晓辉, 文怀秀, 等. 黑果枸杞的抗氧化成分分析及抗氧化能力测定[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(15): 1305 - 1306.
- [13] LIU Z G, DANG J, WANG Q L, et al. Optimization of polysaccharides from *Lycium ruthenicum* fruit using RSM and its anti-oxidant activity[J]. Int J Biol Macromol, 2013, 61(10): 127 - 134.
- [14] BERTOLA A, MATHEWS S, KI S H, et al. Mouse model of chronic and binge ethanol feeding (the NIAAA model) [J]. Nature protocols, 2013, 8(3): 627 - 637.
- [15] LÍVERO F A, ACCO A. Molecular basis of alcoholic fatty liver disease: From incidence to treatment[J]. Hepatology research, 2016, 46(1): 111 - 123.
- [16] JAURIGUE M M, CAPPELL M S. Therapy for alcoholic liver disease[J]. World J Gastroenterol, 2004, 20(9): 2143 - 2158.
- [17] WAGNER M, ZOLLNER G, TRAUNER M. Nuclear receptors in liver disease[J]. Hepatology, 2011, 53(3): 1023 - 1034.
- [18] ALBANO E. Oxidative mechanisms in the pathogenesis of alcoholic liver disease[J]. Molecular aspects of medicine, 2008, 29(1/2): 9 - 16.
- [19] RAKHA E A, ADAMSON L, BELL E, et al. Portal inflammation is associated with advanced histological changes in alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease[J]. Journal of clinical pathology, 2010, 63(9): 790 - 795.

龄幼虫的过冷却点和冰点最高,分别为( $-10.01 \pm 0.24$ )和( $-9.75 \pm 0.13$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,明显高于其他虫态。木橈尺蠖平均过冷却点和结冰点分别为( $-14.63 \pm 0.19$ )和( $-13.99 \pm 0.19$ ) $^{\circ}\text{C}$ 。各虫态过冷却点和结冰点按从高到低的顺序排列为1龄幼虫、2龄幼虫、3龄幼虫、成虫、4龄幼虫、5龄幼虫、6龄幼虫、蛹。

表1 木橈尺蠖不同虫态过冷却点和结冰点

虫态 Insect state	过冷却点 The super-cooling point	结冰点 The freezing point
1龄幼虫 The 1st instar larvae	$-10.01 \pm 0.24$	$-9.75 \pm 0.13$
2龄幼虫 The 2nd instar larvae	$-11.24 \pm 0.15$	$-10.89 \pm 0.16$
3龄幼虫 The 3rd instar larvae	$-12.64 \pm 0.23$	$-12.01 \pm 0.24$
4龄幼虫 The 4th instar larvae	$-14.56 \pm 0.15$	$-13.94 \pm 0.21$
5龄幼虫 The 5th instar larvae	$-15.36 \pm 0.17$	$-14.85 \pm 0.18$
6龄幼虫 The 6th instar larvae	$-17.87 \pm 0.13$	$-16.93 \pm 0.17$
蛹 Pupa	$-20.95 \pm 0.09$	$-19.78 \pm 0.19$
成虫 Adults	$-14.39 \pm 0.20$	$-13.76 \pm 0.22$
平均 Average	$-14.63 \pm 0.19$	$-13.99 \pm 0.19$

2.2 木橈尺蠖不同性别成虫的过冷却点和结冰点 由表2可知,木橈尺蠖雌成虫为( $-14.56 \pm 0.18$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,雄成虫过冷却点为( $-14.22 \pm 0.22$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,高于雌成虫,但两者差异不显著。而雌、雄成虫的结冰点呈显著差异,雌成虫结冰点为( $-14.61 \pm 0.19$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,雄成虫为( $-12.91 \pm 0.25$ ) $^{\circ}\text{C}$ ,雌成虫结冰点显著低于雄成虫。

表2 木橈尺蠖雌、雄成虫的过冷却点和结冰点

性别 Sex	过冷却点 The super-cooling point	结冰点 The freezing point
雌成虫 Female adult	$-14.56 \pm 0.18$	$-14.61 \pm 0.19$
雄成虫 Male adult	$-14.22 \pm 0.22$	$-12.91 \pm 0.25$

### 3 结论与讨论

昆虫的耐寒性强弱可通过其个体的过冷却点高低进行判断,一般情况下,过冷却点低则其耐寒性强,反之亦然<sup>[14]</sup>。该研究对木橈尺蠖除卵以外的各虫态过冷却点和结冰点进行了测定,结果表明:木橈尺蠖的不同发育阶段过冷却点和结冰点都存在显著差异,以蛹最低,1龄幼虫最高;各虫态过冷却点和结冰点按从低到高的顺序为1龄幼虫、2龄幼虫、3龄幼虫、成虫、4龄幼虫、5龄幼虫、6龄幼虫、蛹。一般情况

下,昆虫的越冬虫态抗寒力最强,滞育或者休眠的虫态对低温耐受力较强,而发育时期的昆虫耐受力相对较差<sup>[15]</sup>。木橈尺蠖以蛹越冬,此时抗寒性最强。该试验还对木橈尺蠖雌、雄成虫过冷却点和结冰点进行了测定,结果表明木橈尺蠖的雌成虫过冷却点和结冰点都低于雄成虫,两者的过冷却点差异不显著,而结冰点呈显著差异。一些学者对此做过研究且提出了自己的观点,值得借鉴和探讨。例如,侯柏华等<sup>[16]</sup>认为,雌成虫过冷却点和结冰点都低于雄成虫,与雌雄虫之间的生理适应性有关。杨朗等<sup>[17]</sup>认为这可能由于雌虫体内脂肪含量相对较高,故抗寒能力较强。昆虫的耐寒性不仅和过冷却现象关系密切<sup>[18-19]</sup>,还受昆虫在低温条件下暴露时间的长短等很多因素的影响<sup>[20]</sup>,关于木橈尺蠖低温存活试验和抗寒机理等特性还需进一步探讨。

### 参考文献

- [1] 景晓红,康乐. 昆虫耐寒性的测定与评价方法[J]. 昆虫知识,2004,40(1):7-9.
- [2] 崔玉芳. 木橈尺蠖发生期的物候观察[J]. 山西林业科技,2004(3):26-27.
- [3] 李秋生,王相宏,王巧玲. 木橈尺蠖的生物学特性及防治试验[J]. 林业实用技术,2008(8):28-29.
- [4] 李丹. 木橈尺蠖发生及防治[J]. 新农业,2015(11):36-37.
- [5] 中国科学院动物研究所. 中国农业昆虫(上)[M]. 北京:中国农业出版社,1986:483.
- [6] 张改香. 豫西地区木橈尺蠖发生规律及防治技术研究[J]. 林业实用技术,2012(10):36-37.
- [7] 秦玉川,杨建才. 一种便携式测定昆虫过冷却点的方法[J]. 昆虫知识,2000,37(4):236-238.
- [8] 阙晓堂,王竹红,黄建. 小黑瓢虫过冷却点和结冰点的测定[J]. 武夷科学,2001,27(1):80-84.
- [9] 孙绪良,郭慧玲,李旭廷,等. 桑尺蠖越冬幼虫的耐寒性研究[J]. 蚕业科学,2000,26(3):129-133.
- [10] 李浩,周晓榕,庞保平,等. 低温胁迫对沙葱蚧甲幼虫过冷却能力及生长发育的影响[J]. 应用昆虫学报,2015,52(2):434-439.
- [11] 段小凤. 不同地理种群茶尺蠖抗寒性差异的生理生化机制研究[D]. 雅安:四川农业大学,2015.
- [12] 张柱亭,孙晷,胡志凤,等. 东北地区亚洲玉米螟野生滞育幼虫耐寒性研究[J]. 应用昆虫学报,2013,50(5):1348-1353.
- [13] 任小云,张礼生,齐晓阳,等. 滞育七星瓢虫的代谢适应与抗寒性评价[J]. 环境昆虫学报,2015,37(6):1195-1202.
- [14] 岳雷,周志实,刘志邦,等. 不同强度快速冷驯化对广聚蚧甲成虫耐寒性生理指标的影响[J]. 昆虫学报,2014,57(6):631-638.
- [15] 孔锋. 美国白蛾越冬蛹抗寒性研究[D]. 泰安:山东农业大学,2008.
- [16] 侯柏华,张润杰. 桔小实蝇不同发育阶段过冷却点的测定[J]. 昆虫学报,2007,50(6):638-643.
- [17] 杨朗,贤振华,邓国荣,等. 龙眼长跗蚧甲成虫耐寒性及卵的发育起点温度和有效积温的研究[J]. 中国农学通报,2009,25(2):196-198.
- [18] 刘晓静,石萌,马纪. 小胸瓢甲各龄期幼虫过冷却点的测定[J]. 新疆农业科学,2012,49(6):1080-1085.
- [19] 薛冬,陈丹,范秀娟,等. 烟草潜叶蛾的过冷却点测定[J]. 环境昆虫学报,2014,36(5):860-864.
- [20] 杨燕涛,谢宝瑜,高增祥,等. 寄主植物对棉铃虫越冬蛹抗寒能力的影响[J]. 昆虫知识,2003,40(6):506-512.

(上接第101页)

- [20] 秦云,孟丽媛,王凤舞. 复合酶法提取海带岩藻黄素及其抗氧化活性分析[J]. 食品科学,2013,34(16):279-283.
- [21] HEO S J, JEON Y J. Protective effect of fucoxanthin isolated from *Sargassum siliquastrum* on UV-B induced cell damage[J]. Journal of photochemistry and photobiology B: Biology, 2009, 95(2):101-107.
- [22] 任丹丹,李景娟,李佰磊,等. 海带岩藻黄素对油脂氧化的抑制作用研究[J]. 大连海洋大学学报,2012,27(6):564-566.
- [23] KIM K N, HEO S J, YOON W J, et al. Fucoxanthin inhibits the inflammatory response by suppressing the activation of NF- $\kappa$ B and MAPKs in li-

- popolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages[J]. European J Pharm, 2010, 649(1/2/3):369-375.
- [24] MAEDA H, HOSOKAWA M, SASHIMA T, et al. Fucoxanthin from edible seaweed, *Undaria pinnatifida*, shows antiobesity effect through UCP1 expression in white adipose tissues[J]. Biochemical and biophysical research communications, 2005, 332(2):392-397.
- [25] LIN J Y, ZHANG Y, WANG X Q, et al. *Lycium ruthenicum* extract alleviates high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease via enhancing the AMPK signaling pathway[J]. Molecular medicine reports, 2015, 12(3):3835-3840.