

# 爬沙虫提取液对小鼠生长发育及繁殖性能的影响

杨冬梅, 梁静, 廖鹏, 龙灿, 罗丽, 李俊年\*

吉首大学生物资源与环境科学学院, 吉首 416000

**摘要:** 为探讨爬沙虫提取液对小鼠生长发育及繁殖性能的影响, 分别以含 2.500%、1.250%、0.625% 爬沙虫提取液的饲料及基础饲料喂养小鼠, 结果表明爬沙虫提取液对小鼠生长发育无显著影响, 可缩短 F1 雌鼠初次产仔时间、增加窝仔数、提高 F1 雌鼠子宫指数, 提高 F1 雄鼠精子密度, 增加 F2 断乳前成活率。因此, 爬沙虫提取液可促进小鼠繁殖性能, 且 0.625% 爬沙虫提取液对小鼠繁殖力的促进作用最明显, 而 2.500% 爬沙虫提取液则对小鼠繁殖具有抑制作用。

**关键词:** 爬沙虫; 小鼠; 体重; 窝仔数; 繁殖; 精子

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

## Effects of *Protohermes grandis* Extract on Growth and Reproduction of Mice

YANG Dong-mei, LIANG Jing, LIAO Peng, LONG Can, LUO Li, LI Jun-nian\*

College of Biology and Environmental Sciences, Jishou University, Hunan 416000, China

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the effects of *Protohermes grandis* extract on the growth and reproduction of mice. Different concentrations (0.625%, 1.250% and 2.500%) of *P. grandis* extracts were investigated. The results showed that there were no significant effects of *P. grandis* extracts on the mice's growth; The first littering time of *P. grandis* extract group was shortened; The litter size, ovary's index and the survival rate of F2 before weaning and the sperm density of *P. grandis* extract group were increased significantly. This study demonstrated that *P. grandis* extracts can promote mice's reproductive performance. In addition, mice's reproduction was improved significantly by 0.625% of *P. grandis* extract, while it was inhibited by 2.500% of *P. grandis* extract.

**Key words:** *Protohermes grandis*; mice; body weight; litter size; reproduction; sperm

爬沙虫俗称“水蜈蚣”, 是黄石蛉 (*Protohermes grandis*) 幼虫, 属于昆虫纲广翅目 (Megaloptera) 石蛉科 (Corydalidae) 星齿蛉属 (*Protohermes*)。爬沙虫生活在水中, 为大型底栖昆虫, 喜欢栖息在溪流河床的石缝中, 特别是在激流下, 白天在溪底并不活跃, 夜晚则有较大幅度移行。为水生肉食性昆虫, 食性很广, 包括双翅目 (Diptera)、蜉蝣目 (Ephemeroptera) 和毛翅目 (Trichoptera) 等。

爬沙虫在四川、湘西等地是桌上的佳肴, 富含蛋白质, 被称为“动物人参”<sup>[1,2]</sup>。其性温味甘, 补气补肾, 尤其滋补强壮, 抑虚缩尿固本之功, 堪称药膳佳品, 是天然的滋补食材。但目前对于爬沙虫药用价值研究甚少, 仅见于杨冬梅等 (2004 年) 关于爬沙虫

提取液对果蝇寿命及繁殖力的研究<sup>[3]</sup>。本研究以小鼠为实验对象, 以含 2.500%、1.250%、0.625% 爬沙虫提取液饲料喂养小鼠, 探讨不同浓度爬沙虫提取液对小鼠生长发育及繁殖性能的影响, 旨在为爬沙虫药用功能的开发提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

爬沙虫于 2008 年 11 月 30 日在吉首矮寨大龙洞猛洞河源头采集。由吉首大学生物资源与环境科学学院动物研究室张佑祥副教授鉴定。

### 1.2 实验动物及饲料

健康清洁级昆明小鼠 (HNASLK20080514, 湘雅医学院提供)。动物基础饲料 (湖南省长沙市开福区东创实验动物科技服务部) 营养成分: 水分  $\geq 10\%$ 、粗蛋白  $\geq 21\%$ 、粗纤维  $\leq 5\%$ 、粗脂肪  $\geq 4\%$ 、粗灰分  $\leq 8\%$ 、钙 (1.0 ~ 1.8)%、磷 (0.6 ~ 1.2)%、赖氨酸  $\geq 1.32\%$ 、蛋氨酸  $\pm$  胱氨酸  $\geq 0.78\%$ 。

收稿日期: 2013-02-20 接受日期: 2013-07-24

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30570285); 湖南省科技厅重点计划项目 (2012NK2013); 湖南省教育厅研究生创新基地项目 (201103A); 湖南省生态学重点学科建设项目 (20130713)

\* 通讯作者 E-mail: junnianl@163.com

### 1.3 爬沙虫粗提取液的制备及无菌处理

爬沙虫洗干净后研碎,3层纱布过滤,得到爬沙虫粗提取液,分装并冷冻保存(-70℃)。将粗提取液与去离子水按1:1的比例混合,搅拌。分装到离心管中,10000 rpm,离心30 min。取上清液,以0.22 μm 针孔滤器过滤除菌,得到无菌的爬沙虫提取液。

### 1.4 小鼠的饲养管理

小鼠饲养在不锈钢网罩聚丙烯透明饲养笼(464 mm × 314 mm × 200 mm)中,笼内铺垫木屑。室温控制在25℃,光照周期为8L:16D,用基础饲料喂养,小鼠出生后20 d断乳。

### 1.5 爬沙虫提取液对小鼠生长发育的影响

小鼠断乳7 d后,选取80只体重相近的健康小鼠,组间体重经t检验无显著性差异,随机分成4组,雌雄配对,每组10对,每只小鼠食物投放量为 $8.0 \pm 0.1$  g。处理组小鼠分别用含2.500%、1.250%、0.625%爬沙虫提取液与基础饲料组成的混合饲料饲养,对照组小鼠用基础饲料饲养。F1自出生到断乳需20 d。F1断乳(记为0 d)后30 d内,每隔5 d测定F1体重。

### 1.6 爬沙虫提取液对小鼠繁殖的影响

#### 1.6.1 F1小鼠初次产仔时间及窝仔数

处理组小鼠分别用含2.500%、1.250%、0.625%爬沙虫提取液的混合饲料,对照组小鼠用基础饲料饲养和繁殖。记录F1雌鼠初次产仔所需时

间、窝仔数及F2断乳前的存活率。

#### 1.6.2 小鼠性器官指数及精子数

F2断乳后解剖F1,将其睾丸、附睾、子宫、卵巢小心剥离出,剔除脂肪、筋膜,滤纸吸去脏器表面血液后称重<sup>[4]</sup>,并计算各器官指数。

器官指数 = 脏器重(mg)/体重(g) × 100%<sup>[5]</sup>

取2 mL 37℃预热生理盐水于倾斜放置培养皿中,分离附睾尾,用手术剪将附睾尾剪开,收集精液。取精液稀释液与甲醛固定液按1:1比例混合,细胞计数板计数<sup>[6]</sup>。在高倍镜下观察精子形态。精子若为无定形、香蕉形、无钩、胖头、双头及双尾、无尾及断头都视为非正常精子<sup>[7]</sup>。

### 1.7 统计分析

采用SPSS13.0软件包进行分析,文中数据用 $\bar{x} \pm SD$ 表示,采用one-way ANOVA分析爬沙虫提取液对小鼠体重、繁殖力及内脏器官相对重量的影响,精子畸形率差异采用卡方检验( $\chi^2$  test)分析。

## 2 实验结果

### 2.1 爬沙虫提取液对小鼠生长发育的影响

F1小鼠断乳后的30 d内,处理组小鼠与对照组体重相近且增长速度一致( $P > 0.05$ ,图1),表明爬沙虫提取液对小鼠体重增长作用不明显。

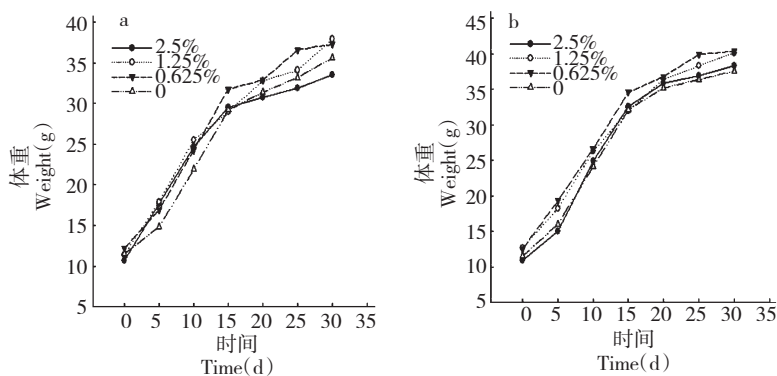


图1 不同浓度爬沙虫提取液条件下小鼠体重变化

Fig. 1 Effects of different concentrations of *P. grandis* extracts on body weight of mice

a: 雌性小鼠; b: 雄性小鼠 a: female mice; b: male mice

### 2.2 爬沙虫提取液对小鼠繁殖力的影响

#### 2.2.1 爬沙虫提取液对F1小鼠初次产仔时间、窝仔数及F2成活率的影响

F1雌鼠初次产仔时间处理组均少于对照组,

0.625%处理组所用时间最少,但各处理组间差异不显著( $P > 0.05$ )。0.625%处理组F2断乳前成活率最高( $P < 0.01$ ),但2.5%处理组F2断乳成活率显著低于对照组( $P < 0.05$ ,表1)。

表1 不同浓度爬沙虫提取液条件下 F1 初产时间、窝仔数及 F2 成活率

Table 1 Effects of different concentrations of *P. grandis* extracts on first littering time, litter size of F1 and survival rate of F2

剂量 Dose(%)	样本数 Sample size	初产时间 First littering time(d)	窝仔数 Litter size	成活率 Survival rate (%)
2.500	20	49.20 ± 3.03	8.60 ± 3.85 <sup>a</sup>	54.20 ± 0.51 <sup>c</sup>
1.250	20	49.25 ± 7.18	8.00 ± 4.24 <sup>a</sup>	64.25 ± 0.17 <sup>b</sup>
0.625	20	46.00 ± 4.97	9.25 ± 2.22 <sup>a</sup>	82.50 ± 0.24 <sup>a</sup>
0	20	50.50 ± 9.25	8.33 ± 1.97 <sup>a</sup>	69.83 ± 0.44 <sup>b</sup>

注:与空白对照比较,<sup>a</sup>  $P > 0.05$ ; <sup>b</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>c</sup>  $P < 0.01$ 。

Note: Compare with control, <sup>a</sup>  $P > 0.05$ ; <sup>b</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>c</sup>  $P < 0.01$ .

### 2.2.2 爬沙虫提取液对 F1 小鼠生殖器官指数的影响

各处理组间雌鼠卵巢指数无显著差异 ( $P > 0.05$ ); 子宫指数从大到小的顺序: 0.625% 组 > 0.125% 组 > 对照组 > 2.500% 组 (表 2)。处理组间

雄鼠睾丸指数和附睾指数无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 0.625% 处理组雄性性器官指数最高。处理组睾丸指数和附睾指数均高于对照组, 且随着爬沙虫提取液浓度的增加, 小鼠生殖器官指数有降低趋势。

表2 不同浓度的爬沙虫提取液条件下雌鼠性器官指数

Table 2 Ovary and uterus indices of female mice fed with different concentrations of *P. grandis* extracts

剂量 Dose (%)	样本数 Sample size	卵巢指数 Ovary index (mg/g)	子宫指数 Uterus index (mg/g)
2.500	20	0.52 ± 0.12 <sup>a</sup>	2.71 ± 1.04 <sup>c</sup>
1.250	20	0.50 ± 0.22 <sup>a</sup>	4.02 ± 0.84 <sup>a</sup>
0.625	20	0.51 ± 0.11 <sup>a</sup>	4.14 ± 0.57 <sup>a</sup>
0	20	0.59 ± 0.17 <sup>a</sup>	3.50 ± 1.65 <sup>b</sup>

注:与空白对照比较,<sup>a</sup>  $P > 0.05$ ; <sup>b</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>c</sup>  $P < 0.01$ 。

Note: Compare with control, <sup>a</sup>  $P > 0.05$ ; <sup>b</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>c</sup>  $P < 0.01$ .

表3 不同浓度的爬沙虫提取液条件下 F1 雄鼠繁殖性状

Table 3 The reproductive traits of F1 male mice fed with different concentrations of *P. grandis* extracts

剂量 Dose (%)	样本数 Sample size	睾丸指数 Testis index (mg/g)	附睾指数 Epididymis index (mg/g)	精子密度 Sperm density (10 <sup>6</sup> /mL)	精子畸形率 Sperm deformity rate (%)
2.500	20	4.89 ± 0.77 <sup>a</sup>	1.70 ± 0.11 <sup>a</sup>	14.90 ± 3.91 <sup>b</sup>	1.83 ± 0.68 <sup>a</sup>
1.250	20	5.02 ± 0.55 <sup>a</sup>	1.74 ± 0.19 <sup>a</sup>	17.01 ± 6.12 <sup>a</sup>	1.59 ± 0.26 <sup>b</sup>
0.625	20	5.15 ± 0.16 <sup>a</sup>	1.82 ± 0.26 <sup>a</sup>	17.49 ± 7.16 <sup>a</sup>	1.45 ± 0.49 <sup>b</sup>
0	20	4.21 ± 0.57 <sup>a</sup>	1.60 ± 0.19 <sup>a</sup>	13.35 ± 4.48 <sup>b</sup>	1.66 ± 0.48 <sup>b</sup>

注:与空白对照比较,<sup>a</sup>  $P > 0.05$ ; <sup>b</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>c</sup>  $P < 0.01$ 。

Note: Compare with control, <sup>a</sup>  $P > 0.05$ ; <sup>b</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>c</sup>  $P < 0.01$ .

处理组 F1 雄鼠精子密度均大于对照组, 0.625% 处理组 F1 小鼠, F1 精子密度最高 ( $P < 0.05$ ); 0.625% 处理组精子畸形率最低, 而 2.5% 处理组雄性小鼠精子畸形率最高 ( $P < 0.05$ , 表 3)。

## 3 讨论

本研究发现, 低浓度 (0.625%) 爬沙虫提取液可缩短 F1 雌鼠初次产仔时间, 提高 F1 雌鼠子宫指数, 增加窝仔数, 提高断乳前 F2 成活率; 同时爬沙虫

提取液可增加雄性小鼠精子密度。其原因可能是, 爬沙虫提取液中的活性成分增强小鼠的性器官功能, 并能刺激雄鼠生精细胞的发育, 增加雄鼠精子数。值得注意的是, 爬沙虫提取液对小鼠繁殖力影响存在剂量效应, 即 0.625% 爬沙虫提取液对小鼠繁殖力促进作用最大, 随着剂量增加, 促进作用减小甚至出现抑制作用, 2.50% 爬沙虫提取液对小鼠的繁殖则有抑制作用。同时, 爬沙虫提取液对小鼠体重增长无明显作用, 此与爬沙虫提取液可促进雌果

蝇生长发育的研究结果<sup>[4]</sup>不符。其原因可能是,爬沙虫提取液有效活性成分对动物的生长发育影响存在种的差异;此外,与果蝇以酵母菌代谢产物为食不同,饲喂小鼠的标准饲料中各营养成分全面,可以满足动物生长发育需要。有关爬沙虫提取液有效成分、促进小鼠繁殖的机理仍需进一步分析。

综上所述,爬沙虫提取液可促进小鼠的繁殖性能,且0.625%剂量组对小鼠繁殖性能的促进作用最大,而2.500%爬沙虫提取液对小鼠的繁殖则有显示有抑制作用。

#### 参考文献

- 1 Wang FB(王付彬), Liu YS(刘玉升). The development and utilization value of *Protohermes grandis*. *Agric Know* (农业知识), 2009, 21: 38-40.
- 2 Shi ZX(施智雄). A research on artificial culture of climbing-sand worms-Panxi special aquatic organisms based on computer control. *J Xichang Coll Nat Sci*(西昌学院学报, 自科版), 2008, 22: 72-75.
- 3 Yang DM(杨冬梅), He L(何岚), Wang CF(王承凤), et al. Effects of *Protohermes grandis* extract on reproductive capacity and life-span of *Drosophila melangogaste*. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2011, 23: 366-369.
- 4 Zhou WW(周文伟), Yu Q(余强), Chen WW(陈文文), et al. Study and correlation analysis of normal reference range of body weight and the main organs coefficient of SPF Male SD rat. *J Zhejiang Acade Med Sci*(浙江省医学科学院学报), 2009, 3: 31-32.
- 5 Sun JX(孙建新), An J(安娟), Lian J(连军). Analysis of the Factors influencing the experimental animal viscera weight and viscera coefficient. *Lab Animal Sci*(实验动物科学), 2009, 1: 49-51.
- 6 Dong W(董伟). *Reproduction in Farm Animals*(家畜繁殖学). Beijing: Beijing Agricultural Press, 1986. 144.
- 7 Dong CH(莫重辉), Zhao BY(赵宝玉), Chang JJ(常建军), et al. 棘防 E 号对小白鼠精子的致畸作用研究. *Heilongjiang Animal Sci Veter Med*(黑龙江畜牧兽医), 2009, 10: 100-101.
- 9 Siddhuraju P, Becker K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chem*, 2007, 101: 10-19.
- 10 Tepe B, Akpulat HA, Sokmen M, et al. Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. *Food Chem*, 2006, 97: 719-724.
- 11 Zhou YJ(周艳娟), Li CQ(李翠芹), Wang JZ(王喆之). Studies on the antioxidant activities of leaves from *Senecio argunensis*. *J Chin Med Mater*(中药材), 2008, 31: 1355-1357.
- 12 Cao QH(曹群华), Qu WJ(瞿伟菁), Huang XQ(黄晓青). Antioxidant and anti-lipid peroxidation of flavonoid from *Hippophae rhamnoides* L seed and pomace. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2003, 25: 670-673.
- 13 Lou C(娄翠), Tang SQ(汤顺清). Anti-lipid peroxidation of fucoidan from *Laminaria japonica*. *China Brewing* (中国酿造), 2011, 8: 25-28.
- 14 Dong FL(董方亮), Xia GY(夏国园), Xiong ZK(熊中奎). Antioxidative activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharide. *J China Tradit Chin Med Information* (中国中医药咨讯), 2010, 2(2): 24-24.
- 15 Zhang ZJ(张志军), Li SF(李淑芳), Wei XS(魏雪生), et al. Study on antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* Polvsaccharide. *Chem Bioengin*(化学与生物工程), 2011, 28(3): 63-66.
- 16 Zhu HM(朱惠明). Lipid peroxidation and liver disease. *Chin J Clinical Hepatology* (临床肝胆病杂志), 1985, 12(7): 207-209.
- 17 Zhang ZJ(张志军), Li SF(李淑芳), Wei XS(魏雪生). Study on scavenging free radicals about *Ganoderma lucidum* polysaccharide. *Food Res Dev*(食品研究与开发), 2012, 33: 167-170.
- 18 Liu XZ(刘晓珍), Nie SP(聂少平), Li WJ(李文娟), et al. Triterpenoids content and antioxidant activity of neutral components from *Ganoderma atrum*. *Journal of Nanchang University, Eng Tech*(南昌大学学报, 工科版), 2011, 33: 332-337.

(上接第 1307 页)