

## 大黄萹醌提取物对罗氏沼虾高温下抗氧化能力与热应激蛋白70基因表达的影响

刘波<sup>1,2</sup>, 明俊超<sup>2</sup>, 谢骏<sup>1,2\*</sup>, 戈贤平<sup>1,2</sup>, 徐跑<sup>1,2</sup>,  
何义进<sup>2</sup>, 周群兰<sup>2</sup>, 潘良坤<sup>2</sup>, 周传朋<sup>1</sup>

(1. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心,

农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室, 江苏 无锡 214081)

**摘要:** 将罗氏沼虾随机分成5组, 每组3个平行, 每个平行1000尾, 第1组为对照组, 投喂基础日粮; 另外4组为试验组, 在基础日粮中分别添加0.05%、0.1%、0.2%、0.4%大黄萹醌提取物。饲养10周后, 对罗氏沼虾进行连续35℃高温应激48h, 测定肝胰腺总抗氧化能力、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、丙二醛、一氧化氮以及应激蛋白70的mRNA相对含量变化。结果表明: 应激前, 0.05%组显著提高了肝胰腺过氧化氢酶活性、超氧化物歧化酶活性, 显著降低了肝胰腺丙二醛含量; 0.2%试验组显著增加了肝胰腺总抗氧化能力、一氧化氮浓度, 显著降低了肝胰腺丙二醛含量; 0.10%、0.2%试验组显著增加HSP70 mRNA的相对含量; 高温应激后, 各组肝胰腺总抗氧化能力、过氧化氢酶活性、超氧化物歧化酶活性、一氧化氮浓度呈现降低趋势, 其中0.1%和0.2%大黄萹醌提取物相对较高, 对照组较低; 肝胰腺丙二醛含量呈现增加趋势, 其中加0.1%和0.2%大黄萹醌提取物比对照组低。应激6h后0.1%和0.2%大黄萹醌提取物组的HSP70 mRNA的相对含量仍比对照组高。因此添加0.1%和0.2%大黄萹醌提取物提高了虾的抗氧化能力, 促进HSP70 mRNA的相对含量, 对高温应激有一定的保护作用。

**关键词:** 罗氏沼虾; 大黄萹醌提取物; 抗应激; 抗氧化; 热应激蛋白70

**中图分类号:** Q 785; S 917

**文献标识码:** A

抗氧化系统是动物在进化中形成的一个完整而复杂的系统, 是动物体内清除多余的活性氧, 保护自身免受氧化损伤的重要体系。它包括非酶类抗氧化剂, 主要有维生素E、维生素C、谷胱甘肽、一氧化氮(nitrogen oxide, NO)、胡萝卜素等; 酶类抗氧化剂, 主要有总抗氧化能力(total antioxidative capacity, T-AOC), 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD), 过氧化氢酶(catalase, CAT)等; 以及水溶性小分子抗氧化剂, 如: 铜蓝蛋白、金属硫蛋白等, 这些物质在清除体内自由基, 减少脂质过氧化产物, 如: 丙二醛(malondialdehyde, MDA), 防止各种病理变化中发挥着重要作用<sup>[1]</sup>。高温是水

产动物在养殖过程中面临的一个主要应激因素, 能影响动物的生长、免疫、抗氧化系统<sup>[2-4]</sup>, 甚至还会影响热应激蛋白(heat shock protein, HSP)变化<sup>[5-6]</sup>, 而且过度的应激会引起机体的免疫抑制, 使机体生理功能紊乱, 易被病原菌感染发病, 甚至死亡<sup>[7-8]</sup>。

中草药具有天然、高效、毒副作用少、资源丰富等优点, 含有生物碱、多糖、皂甙、萹醌类、挥发油和有机酸等, 与动物的免疫功能密切相关<sup>[9]</sup>。大黄萹醌提取物所含大黄素、大黄酚、大黄酸等具有抗氧化及清除氧自由基的作用, 能增加哺乳动物的免疫功能<sup>[10-12]</sup>; 增加鱼体的免

收稿日期: 2010-01-11 修回日期: 2010-03-21

资助项目: 农业科技成果转化资金项目(2008GB23260402); International Foundation for Science, IFS(A/4396); 国家“十五”攻关项目(2004BA526B0505); 中央级公益性科研院所基本科研专项资金项目(2007JBF11)

通讯作者: 谢骏, E-mail: xiej@ffrc.cn

疫与抗应激作用<sup>[13]</sup>。罗氏沼虾也称白脚虾、马来西亚大虾、金钱虾、万氏对虾等,素有淡水虾王之称。原产于印度太平洋地区,生活在各种淡水或咸淡水水域,先后移养于亚洲、欧洲、美洲等一些国家和地区。1976 年自日本引进中国,目前在中国 10 多个省(市、区)推广养殖,以广东、江苏发展最快,是目前世界上养殖量最高的三大虾种之一。而饲料中添加大黄萸醌提取物对罗氏沼虾在高温应激下抗氧化能力的影响鲜有报道。鉴于此,本试验在罗氏沼虾日粮中添加了不同浓度的大黄萸醌提取物,初步探讨其对罗氏沼虾抗氧化以及热应激蛋白 70 (HSP70) 基因表达的影响,为大黄萸醌提取物在水产上的应用及虾病防治方面提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验罗氏沼虾、中草药及日粮

罗氏沼虾由中国水产科学院淡水渔业研究中心渔场提供。试验选择健康、规格、重量基本一致的罗氏沼虾,初体重为 $(1.07 \pm 0.11)$  g,初体长为 $(4.12 \pm 0.13)$  cm。随机分为 5 组,其中 I 组为对照组,II、III、IV、V 组为试验组,每组设 3 个重复,每个重复放养罗氏沼虾 1 000 尾,共 15 个水泥池(规格为 8 m × 2 m × 1 m)。大黄萸醌提取物由南京知新医药研发有限公司提供,主要成分为大黄素、大黄酸、大黄酚等,每毫升提取液以大黄素含量计为 1.40 mg。试验日粮为常规基础日粮,分别添加 0、0.05%、0.1%、0.2% 与 0.4% 大黄萸醌提取物(表 1)。

表 1 基础日粮与营养水平  
Tab.1 Basic diet and nutrition levels

日粮组成(%) ingredients		营养水平 nutrition levels	
鱼粉 fish meal	24	干物质(%) dry matter	89.13
豆粕 soybean meal	20	总能(kJ/g) gross energy	17.73
花生粕 peanut meal	16	粗蛋白(%) crude protein	39.74
菜籽粕 rapeseed meal	8	总磷(%) total phosphorus	1.62
膨化大豆 extruded soybean	8	钙(%) calcium	1.48
次粉 wheat middings	17	蛋氨酸+胱氨酸(%) methionine + cystine	1.10
鱼油 fish oil	2	赖氨酸(%) lysine	2.09
卵磷脂 lecithin	1	苏氨酸(%) threonine	1.34
胆固醇 cholesterin	0.2		
氯化胆碱(50%) choline chloride	0.3		
维生素添加剂 vitamin additive	0.5		
矿物质添加剂 mineral additive	1		
磷酸二氢钙 calcium dihydrogen phosphate <sub>2</sub>			
合计 total	100		

注:1. 营养水平含量中总能(GE)kJ/g;蛋白质 23.64 kJ/g,脂肪 39.54 kJ/g,糖 17.15 kJ/g;其他为实测值。2. 维生素与矿物质添加剂由南京华牧动物研究所提供。

Notes:1. Gross energy (GE) kJ/g; protein 23.64 kJ/g, fat 39.54 kJ/g, carbohydrate 17.15 kJ/g; And the others are measured in the nutrition levels. 2. Vitamin additive and mineral additive were provided by Nanjing Huamu Animal Institute.

### 1.2 饲养试验

罗氏沼虾在中国水产科学研究院淡水渔业研究中心实验基地温室棚水泥池驯化 2 周后投喂试验日粮,以虾体重的 5.0% ~ 10.0% 投喂,每隔两周适量增加投喂量。每天 6:00 - 6:30、12:00 - 12:30 及 18:00 - 18:30 各投喂一次;每天测定水温一次,水源为地下水,7 d 换水一次,每次换水 1/3;每天吸污一次,日夜连续充气增氧,每周测一次水质。整个实验期间水质状况如下:饲养过程中平均水温 $(24.5 \pm 4.32)$  °C,溶氧 > 5 mg/L,氨

氮 < 0.05 mg/L,硫化氢 < 0.1 mg/L, pH 为 7.8 ~ 8.2 等,10 周后饲养结束。

### 1.3 应激试验

饲养试验结束后,选取个体基本一致的虾进行应激试验。采用 35 °C 高温急性应激,对照组和各试验组共 5 组,每个剂量组分 3 个重复组,每个重复组均为 30 尾,放于规格为 50 cm × 50 cm × 40 cm 的 15 个控温水族缸。在高温 35 °C 下连续 48 h 应激,持续充氧,保证足够的氧气供应,减少人为干扰,保持安静,防止额外的应激。

#### 1.4 肝胰腺采集与测定指标

在应激前,以及应激后 6、12、24、48 h 等每个平行组取 3 尾虾采肝胰腺,每组 9 尾虾,肝胰腺  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存,一部分用于抗氧化指标测定,一部分用于分子生物学测定。抗氧化指标测定时样品冰上解冻后加入磷酸缓冲液( $0.064\text{ mol/L}$ , pH 为 6.4)冰浴匀浆后, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $10\ 000\text{ g}$  离心 20 min,取上清液  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。T-AOC 采用苏永腾等<sup>[14]</sup> 化学比色法测定,利用  $\text{Fe}^{3+}$  还原成  $\text{Fe}^{2+}$ ,产物与菲啉类物质形成稳固的络合物,在  $520\text{ nm}$  处比色测定,活力定义为每分钟每毫克肝胰腺匀浆液使反应体系的吸光度值每增加 0.01 时为一个总抗氧化能力单位;SOD 采用苏永腾等<sup>[14]</sup> 氧化酶法测定,通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子,后者氧化羟胺形成亚硝酸盐,在显色剂作用下呈现紫色,在  $550\text{ nm}$  处比色测定,活力定义为每毫克肝胰腺匀浆液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为 1 个 SOD 活力单位。CAT 采用 Xie 等<sup>[13]</sup> 比色法测定,利用 CAT 分解  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,过多的  $\text{H}_2\text{O}_2$  与钼酸铵作用产生一种淡黄色的络合物,在  $405\text{ nm}$  处比色测定,活力定义为每毫克肝胰腺匀浆液每秒钟分解  $1\ \mu\text{mol}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$  量为一个活力单位。NO 采用朱宏友等<sup>[15]</sup> 化学比色法测定,利用 NO 遇氧及水生成硝酸盐及亚硝酸盐,后二者遇硝酸盐显色剂可生成淡红色偶氮化合物,在  $550\text{ nm}$  处比色测定。MDA 采用苏永腾等<sup>[14]</sup> 分光光度计测定,利用 MDA 与硫代巴比妥酸缩合,形成红色产物,在  $532\text{ nm}$  处比色测定。以上测定所需试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。肝胰腺匀浆液蛋白含量采用福林酚方法测定,牛血清白蛋白(BSA)作为标准蛋白,购于南京建成生物工程研究所。

#### 1.5 肝胰腺 HSP70 mRNA 测定

根据 Genebank 罗氏沼虾 HSP70 序列 (AY466445.1),设计 HSP70 引物, F1:  $5'\text{-TGAC AAGGGTTCGCTCAGTA-3}'$ ; R1:  $5'\text{-CATTATCT TGTTGCGATCCTC-3}'$ 。根据 Genebank 罗氏沼虾  $\beta\text{-actin}$  (AY626840.1),设计  $\beta\text{-actin}$  引物 F2:  $5'\text{-TCCGTAAGGACCT GTATGCC-3}'$ ; R2:  $5'\text{-TCGGGAGGTGCGATGATTTT-3}'$ 。所有引物均由上海捷瑞生物有限公司合成,扩增的片段为  $100\sim 150\text{ bp}$ 。

取肝胰腺 50 mg 左右,参照 Trizol Reagent

(Invitrogen 公司)说明书操作,抽提总 RNA,一般  $\text{OD}_{260\text{ nm}/280\text{ nm}}$  为  $1.8\sim 2.0$ 。并以 DNAase I 酶处理过的 RNA 以及 RT 液为模板,用  $\beta\text{-actin}$  的定量引物分别进行 PCR 反应。结果显示,以 RT 液为模板有所需产物,而以 RNA 为模板则无条带,说明处理过的 RNA 无 DNA 污染。反转录反应液:  $500\text{ ng RNA}$ ;  $2\ \mu\text{L } 5\times\text{ Buffer}$ ;  $0.5\ \mu\text{L dNTP Mixture}$  ( $10\text{ mmol/L}$ );  $0.25\ \mu\text{L RNase Inhibitor}$  ( $40\text{ U}/\mu\text{L}$ );  $0.5\ \mu\text{L dT-AP Primer}$  ( $50\text{ mmol/L}$ );  $0.25\ \mu\text{L ExScript}^{\text{TM}}\text{ RTase}$  ( $200\text{ U}/\mu\text{L}$ );加 DEPC  $\text{H}_2\text{O}$  到  $10\ \mu\text{L}$ 。反应条件: $42\text{ }^{\circ}\text{C } 40\text{ min}$ ;  $90\text{ }^{\circ}\text{C } 2\text{ min}$ ,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  保温至关机。

HSP70 mRNA 相对量采用 SYBR ExScript<sup>TM</sup> RT-PCR Kit (大连 TaKaRa 公司),采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 Real Time PCR 扩增反应 (Mini Option Real-Time 仪器, BIO-RAD, USA),荧光定量 PCR 反应液组成:  $12.5\ \mu\text{L SYBR@ premix Ex Taq}^{\text{TM}}$  ( $2\times$ );  $0.5\ \mu\text{L PCR Forward Primer}$  ( $10\ \mu\text{mol/L}$ );  $0.5\ \mu\text{L PCR Reverse Primer}$  ( $10\ \mu\text{mol/L}$ );  $2.0\ \mu\text{L 模板}$  (cDNA 溶液);  $9.5\ \mu\text{L dH}_2\text{O}$ 。反应条件: $95\text{ }^{\circ}\text{C } 10\text{ s}$ ,后 44 个循环: $95\text{ }^{\circ}\text{C } 5\text{ s}$ ;  $60\text{ }^{\circ}\text{C } 15\text{ s}$ ;  $72\text{ }^{\circ}\text{C } 10\text{ s}$ ;  $80\text{ }^{\circ}\text{C } 1\text{ s}$ ;读板记录荧光量, $72\text{ }^{\circ}\text{C } 3\text{ min}$ ;溶解的反应条件为  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  to  $92\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,每升高  $0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$  保持  $1\text{ s}$  读板记录荧光量。PCR 的效率通过稀释一系列的样品 cDNA 建立标准曲线,相关系数大于 0.99。HSP70 mRNA 水平计算以罗氏沼虾  $\beta\text{-actin}$  为内参,对得到的各样品 Ct 值进行均一化处理,以对照组应激前(0 h)时 HSP70 mRNA 为基准,应用  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  确定不同温度应激时间的 HSP70 mRNA 的相对含量<sup>[16]</sup>。

#### 1.6 数据处理

数据用 SPSS 11.5 软件 Duncan 氏多重比较检验各组间的差异,用独立  $t$  检验检验应激前后的变化, $P < 0.05$  表示有差异显著性。所有的结果均以平均值  $\pm$  标准误 ( $\bar{X} \pm \text{SE}$ ) 来表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 大黄萘醌提取物对罗氏沼虾肝胰腺总抗氧化能力的影响

由表 2 可知,肝胰腺总抗氧化能力含量整体趋势:无论应激前,还是应激后,添加中大黄萘醌提取物组都比对照组高,应激 6~48 h 后,各组都

呈现降低趋势。与对照组相比,应激前 0.2%、0.4% 试验组,应激后 12 h 的 0.1%、0.2%、0.4% 试验组,应激后 24 h 的 0.2% 试验组显著增加了肝胰腺总抗氧化能力( $P < 0.05$ ),其他试验组都

没有显著影响。与应激前相比,对照组、0.2%、0.4% 试验组在应激后 12 h 显著降低了肝胰腺总抗氧化能力( $P < 0.05$ ),各组在应激后 24 ~ 48 h 显著降低了肝胰腺总抗氧化能力( $P < 0.05$ )。

表 2 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾肝胰腺总抗氧化能力的影响

Tab. 2 Effects of anthraquinones extracted from *Rheum officinale* Baill on total antioxidative capacity of hepatopancreas of *Macrobrachium rosenbergii* U/mg prot

蒽醌提取物含量 (%) content of anthraquinones extracts	总抗氧化能力 total antioxidative capacity				
	应激前 before stress	应激后 after stress			
		6 h	12 h	24 h	48 h
0	5.74 ± 0.43 <sup>b</sup>	4.92 ± 0.58	2.99 ± 0.12 <sup>b*</sup>	2.59 ± 0.24 <sup>b*</sup>	/
0.05	7.69 ± 0.96 <sup>ab</sup>	5.81 ± 0.53	4.97 ± 0.17 <sup>b</sup>	3.84 ± 0.50 <sup>ab*</sup>	2.31 ± 0.28 <sup>*</sup>
0.1	6.94 ± 0.90 <sup>ab</sup>	6.83 ± 1.03	6.90 ± 0.98 <sup>a</sup>	3.98 ± 0.17 <sup>ab*</sup>	2.57 ± 0.27 <sup>*</sup>
0.2	8.93 ± 0.52 <sup>a</sup>	7.10 ± 1.02	5.91 ± 0.88 <sup>a*</sup>	4.81 ± 0.61 <sup>a*</sup>	2.64 ± 0.34 <sup>*</sup>
0.4	8.04 ± 0.06 <sup>a</sup>	6.57 ± 0.92	5.52 ± 0.63 <sup>a*</sup>	3.39 ± 0.78 <sup>ab*</sup>	2.31 ± 0.22 <sup>*</sup>

注:表中值为平均值 ± 标准误( $n = 9$ );不同字母表示不同组之间在同一时间有差异显著( $P < 0.05$ ),\*表示同剂量组应激前后  $t$  检验结果, $P < 0.05$  为差异显著。“/”表示应激 48 h 下虾全部死亡。下同。

Notes: Data are expressed as the mean of nine fish ± SEM. Significant differences ( $P < 0.05$ ) between values obtained before and after stress are marked by asterisks in  $t$ -tests. Diverse little letters show significant differences ( $P < 0.05$ ) in different dose of each sampling point in Duncan's multiple range test. “/” show all the shrimp were death in 48 h stress time point. The same as below.

## 2.2 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾肝胰腺过氧化氢酶的影响

由表 3 可知,肝胰腺过氧化氢酶活性应激后各组呈现下降趋势。与对照组相比,无论是应激前,还是应激后,除了 0.05% 组在应激前、0.1% 试验组在应激后 6 ~ 12 h 过氧化氢酶活性显著

( $P < 0.05$ ) 提高外,其他各组都没有显著影响。与应激前相比,对照组在应激后 12 h 和 24 h、0.05% 试验组在应激后 6 ~ 48 h、0.2% 在应激后 12 h 和 48 h、0.4% 试验组在应激后 12 ~ 48 h 显著 ( $P < 0.05$ ) 降低了过氧化氢酶活性,其他各组均无显著影响。

表 3 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾肝胰腺过氧化氢酶的影响

Tab. 3 Effects of anthraquinones extracted from *R. officinale* Baill on the catalase of hepatopancreas of *M. rosenbergii* U/mg prot

蒽醌提取物含量 (%) content of anthraquinones extracts	过氧化氢酶 catalase				
	应激前 before stress	应激后 after stress			
		6 h	12 h	24 h	48 h
0	5.84 ± 0.76 <sup>b</sup>	3.65 ± 0.74 <sup>b</sup>	2.78 ± 0.29 <sup>b*</sup>	3.05 ± 0.41 <sup>*</sup>	/
0.05	10.04 ± 0.53 <sup>a</sup>	5.14 ± 0.48 <sup>ab*</sup>	3.94 ± 0.42 <sup>ab*</sup>	3.82 ± 0.88 <sup>*</sup>	2.04 ± 0.38 <sup>*</sup>
0.1	6.97 ± 2.11 <sup>ab</sup>	7.57 ± 1.17 <sup>a</sup>	4.91 ± 0.94 <sup>a</sup>	4.54 ± 0.73	1.31 ± 0.07
0.2	6.99 ± 1.02 <sup>ab</sup>	4.78 ± 0.62 <sup>ab</sup>	3.83 ± 0.48 <sup>ab*</sup>	4.56 ± 0.35	2.39 ± 0.79 <sup>*</sup>
0.4	6.88 ± 0.57 <sup>ab</sup>	6.29 ± 1.31 <sup>ab</sup>	3.88 ± 0.65 <sup>ab*</sup>	3.84 ± 0.91 <sup>*</sup>	2.99 ± 0.77 <sup>*</sup>

## 2.3 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾肝胰腺超氧化物歧化酶的影响

由表 4 可知,肝胰腺中超氧化物歧化酶活性整体趋势:应激后,各组都呈降低趋势。与对照组相比,应激前 0.05% 试验组显著增加 ( $P < 0.05$ ) 肝胰腺中超氧化物歧化酶活性;应激后 24 h 的 0.1%、0.2%、0.4% 试验组显著 ( $P < 0.05$ ) 增加了肝胰腺中超氧化物歧化酶活性,其他各组均无显著影响。与应激前相比,添加大黄蒽醌提取物

的各组在应激后 6 ~ 48 h、对照组在应激后 24 h 显著 ( $P < 0.05$ ) 降低了肝胰腺超氧化物歧化酶活性,其他无显著影响。

## 2.4 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾肝胰腺丙二醛的影响

由表 5 可知,肝胰腺丙二醛的含量整体趋势:无论应激前还是应激后,添加中草药大黄蒽醌提取物组都比对照组低,应激 6 ~ 48 h 后,各组都呈现升高趋势。与对照组相比,应激前 0.05%、

0.2% 试验组显著降低了肝胰腺丙二醛含量 ( $P < 0.05$ ), 应激 24 h 后 0.2% 试验组也显著降低肝胰腺丙二醛含量 ( $P < 0.05$ ), 其他各组均无显著影响。与应激前相比, 对照组在应激后的 12 h 和 24

h; 0.2% 试验组在应激后 6 ~ 48 h; 0.05%、0.1%、0.4% 试验组在应激后 12 ~ 48 h 显著升高了罗氏沼虾肝胰腺 MDA 的含量外 ( $P < 0.05$ ); 其他无显著影响。

表 4 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾肝胰腺超氧化物歧化酶的影响

Tab. 4 Effects of anthraquinones extracted from *R. officinale* Baill on superoxide dismutase of hepatopancreas of *M. rosenbergii*

蒽醌提取物含量 (%) content of anthraquinones extracts	超氧化物歧化酶 superoxide dismutase U/mg prot				
	应激前 before stress	应激后 after stress			
		6 h	12 h	24 h	48 h
0	24.58 ± 4.79 <sup>b</sup>	11.21 ± 2.00	10.70 ± 1.62	7.47 ± 0.46 <sup>b*</sup>	/
0.05	49.45 ± 8.63 <sup>a</sup>	15.68 ± 2.64 <sup>*</sup>	10.00 ± 0.72 <sup>*</sup>	8.60 ± 1.10 <sup>ab*</sup>	7.27 ± 1.54 <sup>*</sup>
0.1	45.56 ± 9.89 <sup>ab</sup>	12.96 ± 2.03 <sup>*</sup>	11.24 ± 1.59 <sup>*</sup>	12.10 ± 1.08 <sup>a*</sup>	7.91 ± 0.45 <sup>*</sup>
0.2	42.33 ± 1.97 <sup>ab</sup>	11.18 ± 2.16 <sup>*</sup>	13.23 ± 1.93 <sup>*</sup>	11.99 ± 1.24 <sup>a*</sup>	10.03 ± 0.59 <sup>*</sup>
0.4	30.78 ± 4.83 <sup>ab</sup>	11.43 ± 1.07 <sup>*</sup>	11.37 ± 1.35 <sup>*</sup>	12.13 ± 2.05 <sup>a*</sup>	10.01 ± 0.94 <sup>*</sup>

表 5 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾肝胰腺丙二醛的影响

Tab. 5 Effects of anthraquinones extracted from *R. officinale* Baill on malondialdehyde of hepatopancreas of *M. rosenbergii*

蒽醌提取物含量 (%) content of anthraquinones extracts	丙二醛 malondialdehyde nmol/mg prot				
	应激前 before stress	应激后 after stress			
		6 h	12 h	24 h	48 h
0	6.65 ± 0.65 <sup>a</sup>	8.91 ± 0.61	11.14 ± 0.49 <sup>*</sup>	12.31 ± 0.33 <sup>a*</sup>	/
0.05	3.64 ± 0.76 <sup>b</sup>	7.74 ± 1.40	9.43 ± 1.29 <sup>*</sup>	9.40 ± 0.47 <sup>ab*</sup>	14.71 ± 0.91 <sup>*</sup>
0.1	5.42 ± 0.83 <sup>ab</sup>	8.77 ± 1.24	11.15 ± 1.58 <sup>*</sup>	11.09 ± 1.28 <sup>ab*</sup>	15.94 ± 1.49 <sup>*</sup>
0.2	3.71 ± 0.87 <sup>b</sup>	7.69 ± 0.53 <sup>*</sup>	8.63 ± 1.02 <sup>*</sup>	9.17 ± 0.71 <sup>b*</sup>	11.60 ± 1.16 <sup>*</sup>
0.4	4.63 ± 0.75 <sup>ab</sup>	7.48 ± 1.28	10.62 ± 1.18 <sup>*</sup>	9.76 ± 1.22 <sup>ab*</sup>	13.95 ± 2.33 <sup>*</sup>

## 2.5 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾肝胰腺一氧化氮的影响

由表 6 可知, 肝胰腺一氧化氮浓度整体趋势: 无论应激前, 还是应激后, 添加大黄蒽醌提取物组都比对照组高, 应激后, 各组都呈现降低趋势。与对照组相比, 应激前仅 0.2% 试验组显著 ( $P <$

0.05) 增加了肝胰腺一氧化氮浓度, 其他试验组都没有显著影响。与应激前相比, 对照组在应激后的 24 h; 0.05%、0.20% 试验组在应激 6 ~ 48 h; 0.1% 试验组在应激后 6、24、48 h; 0.4% 试验组在应激后 12、24、48 h 都显著 ( $P < 0.05$ ) 降低肝胰腺一氧化氮浓度。

表 6 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾肝胰腺一氧化氮的影响

Tab. 6 Effects of anthraquinones extracted from *R. officinale* Baill on nitrogen oxide of hepatopancreas of *M. rosenbergii*

蒽醌提取物含量 (%) content of anthraquinones extracts	一氧化氮 nitrogen oxide mmol/L				
	应激前 before stress	应激后 after stress			
		6 h	12 h	24 h	48 h
0	14.27 ± 4.23 <sup>b</sup>	3.19 ± 0.38	2.60 ± 0.36	2.31 ± 0.13 <sup>*</sup>	/
0.05	19.53 ± 0.56 <sup>ab</sup>	3.86 ± 0.84 <sup>*</sup>	2.47 ± 0.24 <sup>*</sup>	2.00 ± 0.37 <sup>*</sup>	1.67 ± 0.47 <sup>*</sup>
0.1	17.07 ± 3.91 <sup>b</sup>	5.78 ± 0.97 <sup>*</sup>	5.36 ± 1.61	2.36 ± 0.58 <sup>*</sup>	1.85 ± 0.21 <sup>*</sup>
0.2	28.38 ± 3.57 <sup>a</sup>	3.95 ± 1.12 <sup>*</sup>	3.91 ± 1.01 <sup>*</sup>	1.63 ± 0.17 <sup>*</sup>	1.81 ± 0.30 <sup>*</sup>
0.4	20.00 ± 2.88 <sup>ab</sup>	3.40 ± 0.67	2.81 ± 0.40 <sup>*</sup>	3.33 ± 0.91 <sup>*</sup>	2.32 ± 0.46 <sup>*</sup>

## 2.6 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾肝胰腺抗 HSP70 基因表达的影响

由表 7 可知, 肝胰腺 HSP70 mRNA 的相对含量趋势是: 应激前, 各试验组比对照组高; 应激后,

对照组呈现增加趋势, 而试验组没有显著影响。与对照组相比, 应激前, 0.10%、0.2% 试验组显著增加 HSP70 mRNA 的相对含量 ( $P < 0.05$ ); 应激 6 h 后, 0.10%、0.2% 试验组仍然显著增加 HSP70

mRNA 的相对含量( $P < 0.05$ );0.05%、0.40% 试验组在应激后 24 h 显著降低 HSP70 mRNA 的相对含量( $P < 0.05$ )。与应激前相比,对照组在应

激后 12、24 h 显著升高了 HSP70 mRNA 的相对含量( $P < 0.05$ ),其他无显著影响。

表 7 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾肝胰腺 HSP70 的相对含量的影响  
Tab.7 Effects of anthraquinones extracted from *R. officinale* Baill on the relative level of HSP70 mRNA in hepatopancreas of *M. rosenbergii*

蒽醌提取物含量(%) content of anthraquinones extracts	HSP70 mRNA level(arbitrary units)				
	应激前 before stress	应激后 after stress			
		6 h	12 h	24 h	48 h
0	1.10 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.34 ± 0.09 <sup>b</sup>	1.99 ± 0.22 <sup>ab*</sup>	2.64 ± 0.04 <sup>a*</sup>	/
0.05	1.30 ± 0.30 <sup>ab</sup>	1.57 ± 0.18 <sup>b</sup>	1.75 ± 0.25 <sup>ab</sup>	1.57 ± 0.26 <sup>b</sup>	0.85 ± 0.05 <sup>b</sup>
0.1	2.14 ± 0.32 <sup>a</sup>	2.53 ± 0.21 <sup>a</sup>	2.95 ± 0.43 <sup>a</sup>	2.63 ± 0.29 <sup>a</sup>	2.04 ± 0.24 <sup>a</sup>
0.2	2.20 ± 0.34 <sup>a</sup>	2.40 ± 0.34 <sup>a</sup>	2.84 ± 0.57 <sup>a</sup>	2.16 ± 0.35 <sup>ab</sup>	1.63 ± 0.30 <sup>a</sup>
0.4	1.30 ± 0.29 <sup>ab</sup>	1.35 ± 0.20 <sup>b</sup>	1.47 ± 0.23 <sup>b</sup>	1.46 ± 0.27 <sup>b</sup>	1.00 ± 0.12 <sup>b</sup>

### 3 讨论

病原、虾和环境是产生虾病的 3 个重要因素。作为甲壳动物的虾类,免疫系统还很不成熟,主要以非特异性免疫(non-specific immunity)为主。抗氧化系统能清除体内多余的活性氧、保护自身免受氧化损伤,防止各种病理变化。T-AOC、MDA、CAT、SOD 均是用于衡量动物机体内抗氧化功能的代表性指标<sup>[17-18]</sup>。T-AOC、SOD、CAT 能够清除自由基,减少脂质过氧化损伤<sup>[19]</sup>。应激会造成机体内自由基产生增多,如果超出机体的清除能力,破坏了体内自由基产生与清除之间的动态平衡,产生过多的自由基等活性氧具有很强的氧化性,能攻击质膜中不饱和脂肪酸的双键,造成脂质过氧化,增加体内脂质过氧化物<sup>[20]</sup>。本试验也表明,高温应激后各组 T-AOC、SOD、CAT 含量等均呈不同程度的下降趋势,其中,对照组在应激后 12~24 h 显著降低了肝胰腺总抗氧化能力、过氧化氢酶活性,并且在应激后 24 h 显著降低了肝胰腺超氧化物歧化酶活性。

脂质过氧化物进一步分解,可产生大量的醛类、醇类和烃类,其中,MDA 是具有很强生物毒性的物质,会对机体造成伤害,反映细胞受损伤程度以及脂质过氧化程度<sup>[21]</sup>。本试验表明,应激前,丙二醛处于低水平,应激后,各组均呈上升趋势,其中对照组在应激 12、24 h 后显著升高了罗氏沼虾肝胰腺 MDA 的含量。

大黄蒽醌提取物所含大黄素、大黄酚、大黄酸等,研究表明,在哺乳动物中大黄素具有抑菌抗炎、抗氧化及清除氧自由基、保护肝胰腺和增加动

物免疫等作用<sup>[10-12]</sup>;Xie 等<sup>[13]</sup>在对建鲤的研究中,表明大黄蒽醌提取物能提高鱼体免疫、抗氧化以及抗高密度应激的能力。周显青等<sup>[22-23]</sup>,滕旭等<sup>[24]</sup>在日粮中添加黄芪、维生素 C、维生素 E 等能增强机体抗应激与抗氧化能力,减少脂质过氧化损伤。本试验也表明:与对照组相比,0.2% 应激前、应激后 12、24 h 都显著增加了肝胰腺总抗氧化能力。0.1% 试验组在应激后 6~12 h 显著提高过氧化氢酶活性。0.1%、0.2% 应激后 24 h 显著增加了肝胰腺中超氧化物歧化酶活性。并且与对照组相比,0.2% 试验组在应激前,以及应激后 24 h 显著降低了肝胰腺丙二醛含量。因此,无论是应激前,还是高温应激后,日粮中添加 0.1%~0.2% 大黄蒽醌提取物能提高罗氏沼虾肝胰腺总抗氧化能、过氧化氢酶活性,超氧化物歧化酶活性,降低了丙二醛含量,一定程度上降低了机体内脂质过氧化物的含量,起到抗高温应激的作用。

生物体内一氧化氮(NO)是由一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS)催化 L-精氨酸产生的。在免疫系统进化过程中,利用 NO 作为杀伤因子的杀菌机制代表了一种古老的自然免疫反应。它对细菌、病毒和寄生虫等具有抑制和杀灭作用<sup>[25-26]</sup>。朱宏友等<sup>[15]</sup>研究表明水温骤降后,凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)血清中 NO、NOS 的水平有不同程度的降低。越来越多的研究表明生物体内 NO 浓度的高低也能反映生物有机体的健康状况。本试验也表明,应激前,0.2% 的试验组中虾血液的 NO 浓度较同期对照组显著增加;应激后,添加大黄蒽醌提取物组 NO 浓度下

降趋势比对照组少,说明大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾高温应激造成的 NO 浓度的降低有一定的抵消作用。

热应激蛋白 70 (heat stress proteins 70, HSP70), 是机体在应激情况下细胞内迅速合成的一种蛋白质, 具有高度保守性, 能增加是机体的自身保护反应, 可以清除应激所造成细胞内的异常或变性蛋白质, 具有活化其他细胞基因的作用, 能够抑制由于 ATP 损耗引起的细胞凋亡<sup>[27-28]</sup>。适当高温、缺氧、重金属离子、病毒感染等都可以导致细胞 HSP70 增加<sup>[29-30]</sup>。陈琦等<sup>[31]</sup>对大鼠, 马得莹等<sup>[32]</sup>对蛋鸡, 雷爱莹等<sup>[33]</sup>对凡纳滨对虾的研究中, 表明复方中草药能促进肌体热应激蛋白 70 基因表达。本试验也表明高温应激后对照组在应激后 12、24 h 比应激前显著升高了 HSP70 mRNA 的相对含量。并且与对照组相比, 应激前与应激后 6 h, 0.10%、0.2% 试验组显著增加 HSP70 mRNA 的相对含量, 促进了热应激蛋白 70 基因表达, 随着应激时间的延长, 应激后 24 h 后 0.05%、0.40% 试验组显著降低 HSP70 mRNA 的相对含量, 这也间接的说明大黄蒽醌提取物提高了虾的耐受性, 能够抵抗高温对罗氏沼虾的应激损害, 对机体起保护作用。联系本试验 0.1% ~ 0.2% 大黄蒽醌提取物能提高罗氏沼虾肝胰腺 T-AOC、CAT、SOD, 降低了 MDA 含量, 说明了 T-AOC、CAT、SOD、MDA、HSP70 mRNA 的相对含量之间有一定的相关性, 这与 Su 等<sup>[34]</sup>结果一致, 认为 HSP70 能提高抗氧化酶类的活性, 消除氧自由基, 同时其本身也具有抗氧化作用。

因此, 在高温应激下, 罗氏沼虾肝胰腺 T-AOC、CAT、SOD、NO 呈现降低趋势, MDA、HSP70 的基因表达水平呈现增加趋势, 肝胰腺 T-AOC、CAT、SOD、NO, MDA、HSP70 的基因表达水平等呈现一定的相关性, 具体作用机理还待进一步的研究。日粮中添加 0.1% ~ 0.2% 大黄蒽醌提取物能提高罗氏沼虾肝胰腺 T-AOC、CAT、SOD 以及 NO 浓度, 降低了 MDA 含量, 一定程度上降低了机体内脂质过氧化物的含量, 促进 HSP70 mRNA 的相对含量, 对高温应激有一定的保护作用。

#### 参考文献:

- [1] 陈瑗, 周玫. 自由基医学和农学基础[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 10-20.
- [2] Collazos M E, Barriga C, Ortega E. Effect of high summer temperatures upon granulocyte phagocytic function of the tench (*Tinca tinca* L.) [J]. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 1995, 18(2): 115-121.
- [3] Eggset G, Mikkelsen H, Killie J A. Immunocompetence and duration of immunity against *Vibrio salmonicida* and *Aeromonas salmonicida* after vaccination of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) at low and high temperatures [J]. Fish & Shellfish Immunology, 1997, 7(4): 247-260.
- [4] Monari M, Matozzo V, Foschi J, et al. Effects of high temperatures on functional responses of haemocytes in the clam *Chamelea gallina* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2007, 22(1/2): 98-114.
- [5] Burkhardt-Holm P, Schmidt H, Meier W. Heat shock protein (hsp70) in brown trout epidermis after sudden temperature rise [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A, 1998, 120(1): 35-41.
- [6] Deane E E, Woo N Y S. Cloning and characterization of the hsp70 multigene family from silver sea bream: Modulated gene expression between warm and cold temperature acclimation [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2005, 330(3): 776-783.
- [7] Ojolic E J, Cusack R, Benfey T J, et al. Survival and growth of all-female diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at chronic high temperature [J]. Aquaculture, 1995, 131(3/4): 177-187.
- [8] Rahman M M, Escobedo-Bonilla C M, Corteel M, et al. Effect of high water temperature (33 °C) on the clinical and virological outcome of experimental infections with white spot syndrome virus (WSSV) in specific pathogen-free (SPF) *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2006, 261(3): 842-849.
- [9] 程志斌, 葛长荣, 韩剑众. 中草药有效成分对动物免疫功能的影响及其应用 [J]. 动物科学与动物医学, 2002, 19(1): 1-3.
- [10] Huang S S, Yeh S F, Hong C Y. Effect of anthraquinone derivatives on lipid peroxidation in rat heart mitochondria: Structure activity relationship [J]. J Nat Prod, 1995, 58(9): 1365-1371.
- [11] 王文俊, 吴咸中, 姚智, 等. 大黄素、丹参素对单核细胞分泌炎症细胞因子的调节 [J]. 中国免疫学杂志, 1995, 11(6): 370-372.
- [12] Chang C H, Lin C C, Yang J J. Anti-inflammatory effects of emodin from *Ventilago leiocarpa* [J]. Am J

- Chin Med,1996,24(2):139-142.
- [13] Xie J, Liu B, Zhou Q L, *et al.* Effects of anthraquinone extract from rhubarb *Rheum officinale* Baill on the crowding stress response and growth of common carp *Cyprinus carpio* var. Jian [J]. *Aquaculture*,2008,281(1/4):5-11.
- [14] 苏永腾,刘波,周群兰,等. 大黄蒽醌提取物对罗氏沼虾抗鳃弧菌感染的研究[J]. *水产学报*,2008,32(3):455-463.
- [15] 朱宏友,王广军,余德光,等. 水温骤降后凡纳滨对虾血清中 NO、NOS 水平及对副溶血弧菌的敏感性[J]. *大连水产学院学报*,2006,21(1):46-50.
- [16] Livak K J, Schmittgen D. Schmittgen. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method [J]. *Methods*,2001,25(4):402-408.
- [17] Lewis S E M, Young I S, Boyle P M. Total antioxidant capacity of seminal plasma is different in fertile and infertile men [J]. *Fertil Steril*,1995,64(4):868-870.
- [18] 方展强,王春风. 硒对汞致剑尾鱼鳃和肝组织总抗氧化能力变化的拮抗作用[J]. *实验动物与比较医学*,2005,25(3):136-139.
- [19] Munoz M, Cedenq R. Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei* [J]. *Aquaculture*,2000,191(1/3):89-107.
- [20] 周显青,梁洪蒙. 拥挤胁迫下小鼠肝胰腺脂质过氧化物含量和抗氧化酶活性的变化[J]. *动物学研究*,2003,24(3):238-240
- [21] 徐德立,赵小立,张铭. 低温胁迫下草鱼 ZC-7901 细胞系内丙二醛含量的变化[J]. *曲阜师范大学学报(自然科学版)*,2003,29(4):88-90.
- [22] 周显青,牛翠娟,孙儒泳. 维生素 C 和 E 混合饲喂对中华鳖幼鳖抗酸应激能力的影响[J]. *动物学研究*,2004,25(1):37-42.
- [23] 周显青,牛翠娟,孙儒泳. 黄芪对中华鳖免疫和抗酸应激能力的影响[J]. *水生生物学报*,2003,27(1):110-112.
- [24] 滕旭,武文琦,周显青. 维生素 C 多聚磷酸酯对小鼠肝胰腺抗氧化酶基因转录的影响[J]. *动物学报*,2006,52(6):1107-1112
- [25] Tafalla C, Figueras A, Nonoa B. Role of nitric oxide on the replication of viral haemorrhagic septicemia virus (VHSV) [J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*,1999,72(3/4):249-256.
- [26] 何永明. 一氧化氮的生理作用与中药调节[J]. *中兽医杂志*,2000,19(2):35-38.
- [27] Morimoto R I. Cell in stress: transcriptional activation of heat shock genes [J]. *Science*,1993,259(5100):1409-1410.
- [28] Wang Y, Knowlton A A, Christensen T G, *et al.* Prior heat stress inhibits apoptosis in adenosine triphosphate depleted renal tubular cells [J]. *Kidney International*,1999,55(6):2224-2235.
- [29] Polla B S. Heat shock proteins in host-parasite interactions [J]. *Immunol Today*,1991,12(3):A38-A41.
- [30] 谷文萍. 热休克蛋白 70 研究进展 [J]. *国外医学神经病学神经外科学分册*,1999,26(2):57-59.
- [31] 陈琦,华修国,顾晓峰,等. 复方中草药对大鼠热应激蛋白 70 mRNA 的表达影响 [J]. *上海交通大学学报(农业科学版)*,2006,24(1):61-64.
- [32] 马得莹,单安山. 几种中草药抗蛋鸡热应激作用分子机制的初步研究 [J]. *动物营养学报*,2007,19(3):283-288.
- [33] 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]. *广西农业科学*,2008,39(6):830-833.
- [34] Su C Y, Chong K Y, Chen J, *et al.* A physiologically relevant hyperthermia selectively activates constitutive HSP70 in H902 cardiac myoblasts and confers oxidative protection [J]. *Mol Cell Cardiol*,1999,31(4):845-855.



## Effects of anthraquinones extract from *Rheum officinale* Baill on the hepatopancreas antioxidative capacity and *HSP70* gene expression under high temperature of *Macrobrachium rosenbergii*

LIU Bo<sup>1,2</sup>, MING Jun-chao<sup>2</sup>, XIE Jun<sup>1,2\*</sup>, GE Xian-ping<sup>1,2</sup>, XU Pao<sup>1,2</sup>,

HE Yi-jing<sup>2</sup>, ZHOU Qun-lan<sup>2</sup>, PAN Liang-kun<sup>2</sup>, ZHOU Chuan-peng<sup>1</sup>

(1. Wuxi Fishery College, Nanjing Agriculture University, Wuxi 214081, China;

2. Key Laboratory of Genetic Breeding and Aquaculture Biology of Freshwater Fishes, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

**Abstract:** *Macrobrachium rosenbergii*, also known as the giant river prawn, the giant freshwater prawn or the Malaysian prawn, is the most important cultivated species of freshwater shrimp in the world. This species (as well as other *Macrobrachium*) is commercially important for its value as a food source. In China, the production of *M. rosenbergii* has been increasing in recent year. However, cultured *M. rosenbergii* in China as well as in other parts of the world have suffered from various stress factors such as ambient temperature, stocking density, physicochemical parameters, transport, and storage. Stress means the sum of nonspecific responses of organisms to various acute stimuli inside and outside. It is a physiological response of any organisms in the long evolution process to extend its adaptation, but excess response, which inhibits immunity, improves the free radical contents, destroys the homeostasis between producing and cleaning-up of free radical, and attacks the double bond of polyunsaturated fatty acid in plasma membrane, the last leading to increase the lipid peroxidation contents and lipid peroxidation injury. So these are many disadvantageous impacts on organisms and it causes fish to infect diseases even to die. Therefore, how to alleviate stress response is the research focus in this field. The present research falls on substances, which can strengthen immunity of organisms and alleviate stress, e. g. vitamin C, vitamin E, lipid acid, metal ion, fructose, astacin. Chinese herbal medicines have many merits: natural, highly effective, low toxicity, low side effects, and rich in resources. Chinese herbal medicines have many effective components, such as organic acids, alkaloid, saccharide, volatile oil, wax, glycoside, tannic acid substance and some unknown factors that can elevate fish immunity and enhance the growth. However, few reports have been found in studying the effects of Chinese herbal medicines on the hepatopancreas antioxidative capacity and the level of *HSP70* mRNA under high temperature of *M. rosenbergii*. In view of this, *M. rosenbergii* were divided into 5 groups randomly. The control were fed with basal diet, the others the treated groups were fed with basal diet supplemented with 0.05%, 0.10%, 0.20%, 0.40% anthraquinone extracts for 10 weeks, respectively. After that, shrimp were stressed by high temperature at 35 °C for 48 h continuously. The changes of total antioxidative capacity (T-AOC), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), nitrogen oxide (NO), malondialdehyde (MDA) and the mRNA level of heat shock protein 70 (HSP70) in hepatopancreas before and after the stress were investigated. The results showed that compared with the control, 0.05% dose of anthraquinone extract could elevate CAT, SOD activities and reduce MDA concentration, 0.20% dose group improved T-AOC and NO content and reduced MDA concentration, and 0.10%, 0.20% doses groups improved also the relative content of *HSP70* mRNA before the stress. After 35 °C high temperature stress, T-AOC, CAT activities, SOD activities, and NO concentrations in hepatopancreas were decreasing in all groups of which the control relatively lower and 0.10%–0.20% doses groups were relatively higher, while MDA contents were increasing trend in all groups of which the control was relatively higher and 0.10%–0.20% doses groups were relatively lower. The relative content of *HSP70* in hepatopancreas 6 h after the stress in 0.10% and 0.20% doses groups were higher than those of the control. It is concluded that ingestion of 0.10%–0.20% doses of anthraquinones extracts could improve the antioxidative capacity, elevate the relative content of *HSP70* mRNA and help prevent negative effects of high temperature stress to a certain degree.

**Key words:** *Macrobrachium rosenbergii*; anthraquinone extract from *Rheum officinale* Baill; stress prevention; antioxidative capacity; heat stress protein 70

**Corresponding author:** XIE Jun. E-mail: xiej@ffrc.cn