文章编号：1674-8085(2021)01-0049-05

红芪加工废弃物活性多糖对果蝇生育力和寿命及抗氧化能力的影响

叶文斌[1,2,3]，何玉鹏[1,2]，宫峥嵘[1,2]，陈耀年[1,2]，*罗　辉[4]

（1.陇南师范高等专科学校 农林技术学院，甘肃，成县 742500；2.陇南特色农业生物资源研究开发中心，甘肃，成县 742500；
3.甘肃省农业固体废弃物资源化利用重点实验室，甘肃，天水 741000；4.井冈山大学医学部，江西，吉安 343009）

摘　要：研究红芪废弃物中提取的生物活性多糖对黑腹果蝇的生殖能力、寿命和抗氧化能力的影响。通过不同浓度的红芪多糖对黑腹果蝇的存活试验，研究了一代至四代（F_1-F_4）的生殖能力和寿命、雌雄个体数、抗氧化酶超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的活性和丙二醛(MDA)含量的变化。 结果表明，与对照组相比，添加多糖可提高 F_1-F_4 雌雄果蝇的繁殖能力，延长其寿命，降低果蝇体内丙二醛含量，提高了黑腹果蝇的抗氧化能力和生命力，表现出剂量效应， 雌雄果蝇性比为接近 1:1。

关键词：红芪加工废弃物；活性多糖；黑腹果蝇；生育力和寿命；抗氧化能力

中图分类号：Q355/R135.1　　**文献标识码**：A　　DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2021.01.009

EFFECT OF BIOACTIVE POLYSACCHARIDES EXTRACT FROM *HEDYSARUM POLYBOTRYS* PROCESSED WASTE ON THE REPRODUCTIVE CAPACITY AND LIFE AND ANTIOXIDATION OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

YE Wen-bin[1,2,3], HE Yu-peng[1,2], GONG Zheng-rong[1,2], CHEN Yao-nian[1,2], *LUO Hui[4]

(1. School of Agriculture and Forestry Technology, Longnan Teachers College, Chenxian, Gansu 742500, China;
2. Center for Research & Development of Longnan Characteristic Agro-bioresources, Chenxian, Gansu 742500, China;
3. Gansu Key Laboratory for Utilization of Agricultural Solid Waste Resources, Tianshui, Gansu 741000, China;
4. Health Science Center, Jinggangshan University,　Ji'an , Jiangxi 343009, China)

Abstract: The effects of bioactive polysaccharides extract from *Hedysarum polybotrys* processed waste on the reproductive capacity, life and Antioxidation of *Drosophila Melanogaster* were studied. Experiments were conducted to examine different concentrations of *H. polybotrys* polysaccharides for *D. melanogaster*, the reproduction capability and life span of first to fourth (F_1 to F_4) generation, the number of female and male, the activity of antioxidant enzyme superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and malondialdehyde (MDA) contents were investigated. The results showed that, compared with the control group, adding polysaccharides could increase the reproduction capability, extend the life span of F_1 to F_4 female and male fruit flies, reduce the contents of MDA in the fruit flies and improve the antioxidant capacity of *D. melanogaster*, exhibiting a dosage

收稿日期：2020-09-12；修改日期：2020-11-18
基金项目：国家自然科学基金项目（31460488）；2019 年甘肃省高等学校创新能力提升项目(2019A-190)；江西省教育科技计划项目（GJJ190563）
作者简介：叶文斌(1982-)，男，甘肃西和人，副教授，硕士，主要从事遗传毒理、天然产物化学与功能食品研究(E-mail:yewenbinbest@sohu.com);.
何玉鹏(1989-)，男，甘肃天水人，讲师，硕士，主要从事遗传毒理与动物功能饲料研究(E-mail:yiyan.happy@163.com);
宫峥嵘(1989-)，男，甘肃成县人，讲师，硕士，主要从事植物营养研究(E-mail:lndzgzr@163.com);
陈耀年(1989-)，男，甘肃武威人，讲师，硕士，主要从事昆虫与植物保护研究(E-mail:466451965@qq.com);
*罗　辉(1971-)，男，江西吉安人，副教授，硕士，主要从事生物学、分子生物学及遗传学研究(E-mail: luohui9898@163.com).

effect. and the sex ratio of female and male fruit flies was 1:1.

Key words: *Hedysarum polybotrys* processed waste; active polysaccharide; *Drosophila melanogaster*; reproductive capacity and life; antioxidation

中国是世界上最大的农业国家，也是世界上农业废弃物产出最多的国家，随着农业经济的不断发展，农业种植物的固体废弃物也随之增加[1-2]。近年来随着国家对中药材种植的政策支持，甘肃省大力实施陇药振兴计划，明确支持建立中药材生产基地。陇南道地中药材红芪（*Hedysarum polybotrys Hand.-Mazz.*）是主要支持和推广种植栽培的品种，近 3 年仅陇南红芪种植面积已达 10 万亩以上，采挖面积 6 万亩以上，年产量超过 200 万吨，产值达 2 亿元以上，陇南已成为中国最大的红芪生产、加工和销售基地。甘肃道地中药材武都红芪是多序岩黄芪栽培驯化的变种，主要药用部位是干燥的根[3]。祖国医学认为其性温味甘，具有补气、利尿、排脓、敛疮生肌等功效[4]，以陇南市武都米仓山特产尤为著名，是中国国家地理标志产品，其主要成分为红芪多糖，占红芪总成分的 23%~34% [4]。中药类多糖具有众多的生理功能使其成为国内外研究的热点。红芪多糖同其它药用植物多糖一样，具有广泛的药理作用，而且具有依赖性低、毒副作用小、安全性高、疗效好等特点[5-6]。由于红芪加工时会产生数量巨大废弃物，对加工废弃物的处理和资源化利用研究是当前的一个主要问题。而红芪加工废弃物中植物活性多糖的主要成分为红芪多糖，占红芪废弃物总成分的 13.96%，主要由鼠李糖、木糖、阿拉伯糖、葡萄糖和半乳糖组成[7-8]。迄今，用红芪加工废弃物活性多糖对果蝇生育力和寿命及抗氧化能力的影响的研究报道较少。

本研究以黑腹果蝇为材料，采用生存实验及统计分析方法研究和探讨红芪加工废弃物活性多糖对果蝇寿命和生育力及抗氧化能力的影响，为开发无毒无副作用的抗氧化、抗衰老替代药物和功能食品提供依据，也为红芪加工废弃物的再利用和综合开发利用提供技术。

1 材料与方法

1.1 实验材料与主要仪器

红芪加工废弃物活性多糖主要成分为红芪多糖，含量为 13.96%，纯度为 99.38%，陇南师范高等专科学校农林技术学院实验室提供，超氧化物歧化酶试剂盒（批号 20160822）购自卡迈舒（上海）生物科技有限，过氧化氢酶试剂盒（批号 20170509）购自南京建成生物工程研究所，MDA 试剂盒（批号 20170729）购自武汉默沙克生物科技有限公司，立式蒸汽压力灭菌锅(上海博迅医疗生物仪器股份有限公司)、电热恒温培养箱（上海精密仪器仪表公司）、单人超净工作台（北京亚泰科隆仪器技术有限公司）、紫外可见分光光度计（上海谱元仪器有限公司）、高速冷冻离心机（北京时代北利离心机厂）。

1.2 实验动物

野生型黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)，由天水师范学院遗传学实验室赠送，培养温度条件为25℃，相对湿度为65%。

1.3 实验方法

1.3.1 果蝇生育力的测定

参考叶文斌等[9-11]的文献方法配制基本培养基，在基本培养基中添加红芪加工废弃物多糖形成浓度为 50、100、200、400 mg/L 的处理培养基，以此建立红芪加工废弃物多糖 4 个剂量组，对照组为基本培养基（CK）。实验基本操作为：在无菌状态下收集 10 对未交配的雄果蝇和处女蝇，接入到添加 4 种浓度的红芪加工废弃物多糖的处理培养基培养瓶中，在恒温生化培养箱中培养 7 d 后，移去亲代，按性别分别观察统计子代（F_1）果蝇数量和性别比。在观察记录数据的第 4 d，随机收集 10 对 F_1 代未交配的雄果蝇和处女蝇接入 4 种培养基继续中作继代培养，进而繁殖 F_2 代，同样方法繁殖 F_3 代和 F_4 代，每处理浓度培养基培养建立 3 个重复，基本培养基为对照（CK），分别统计出各代果蝇的数量和性别比[9-11]，以此来考察红芪加工废弃物多糖对果蝇的生育力影响。

1.3.2 果蝇寿命测定

本实验考察果蝇的平均寿命，在无菌状态下收集未交配的雄果蝇和处女蝇分别隔离培养，参考叶

文斌等[7-9]的文献方法，在基本培养基中添加红芪加工废弃物多糖形成浓度为 50、100、200、400 mg/L 的处理培养基，每瓶培养基中各接入 50 只果蝇，4 种不同浓度多糖的培养基分别各接果蝇 10 瓶（5♀，5♂），基本培养基为对照（CK），观察记录果蝇死亡数，直到最后一只果蝇死亡，后对统计的数据进行分析整理，果蝇平均寿命按照公式 $\overline{L}=\frac{\sum_{i=1}^{N}L}{N}$ 来计算，其中，L 表示果蝇寿命，$\overline{L}$ 为果蝇平均寿命，N 为果蝇总数，i 为果蝇数；实验操作从生育力实验中取 F_1-F_4 代进行寿命实验，方法同前，以此统计最终结果，比较不同浓度处理下的果蝇死亡率[9-11]。

1.3.3 果蝇抗氧化能力测定

本实验所使用的方法主要参考叶文斌等[7-9]的文献方法。首先将恒温恒湿条件下培养了30 d的50只果蝇，提前用无菌水浸湿滤纸后放入空白的培养管中，然后将果蝇移入管中，用乙醚将果蝇麻醉、称重后放到在4 ℃条件下预冷了的研钵中；然后在研钵中按加入提前预冷了的生理盐水，水的体积和果蝇质量按照49:1（μL/mg），进行充分的研磨，冷冻离心机离心15 min，5 000 转/min，离心半径为3 cm，离心后取上清液，测定红芪加工废弃物多糖来测定果蝇的抗氧化能力。再通过使用超氧化物歧化酶（SOD）的试剂盒、过氧化氢酶（CAT）的试剂盒、丙二醛（MDA）的试剂盒来测定上清液中SOD、活力和丙二醛MDA的含量。在测定过程中严格遵循试剂说明书操作。

1.3.4 数据统计与分析

实验所有数据用 SPSS17.0 软件来统计分析，各浓度多糖处理的实验结果与对照组进行单因素方差分析，$P<0.05$ 表示统计学意义为显著差异，$P<0.01$ 表示统计学意义为极显著差异。

2 结果与分析

2.1 红芪加工废弃物多糖对果蝇生育力的影响

红芪加工废弃物多糖对 F_1-F_4 代雌、雄果蝇生育力和性别比的影响如图 1 所示。F_1-F_4 代雌、雄果蝇数量随着多糖浓度的升高均出现升高的趋势。在多糖浓度为 50 mg/L 时，F_1-F_4 代雌、雄果蝇数量均比对照组高，果蝇数量和对照组相比，在统计学上有显著差异($P<0.05$)；当多糖的浓度为大于200 mg/L时，F_1-F_4 代雌、雄果蝇数量和对照组相比，在统计学上有极显著差异（$P<0.01$）；当多糖的浓度为 400 mg/L 时，F_1-F_4 代雌、雄果蝇数量是对照组数量的 200%左右；当多糖的浓度在 50~400 mg/L 之间时，F_1-F_4 代雌、雄果蝇数量的比值变化幅度不明显，总体的比值接近 1:1。

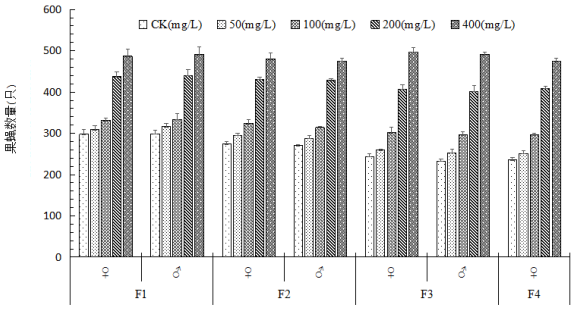

图 1 红芪加工废弃物多糖对果蝇世代生育力的影响

Fig.1 Effect of polysaccharides extract from *Hedysarum polybotrys* processed waste on generational fertility of fruit flies

2.2 红芪加工废弃物多糖对果蝇寿命的影响

红芪加工废弃物多糖对 F_1-F_4 代雌、雄果蝇平均寿命的统计结果如图 2 所示。F_1-F_4 代雌、雄果蝇的平均寿命随着多糖浓度的升高均出现升高的趋势，当多糖浓度为 50 mg/L 时，F_1-F_4 代雌、雄果蝇的寿命与对照组相比，统计学意义为显著差异（$P<0.05$）。多糖浓度在 100~400 mg/L 时，F_1-F_4 代雌、雄果蝇寿命与对照组相比，统计学意义为极显著差异（$P<0.01$）。结果提示红芪加工废弃物多糖对雌、雄果蝇的平均寿命具有明显延长作用。

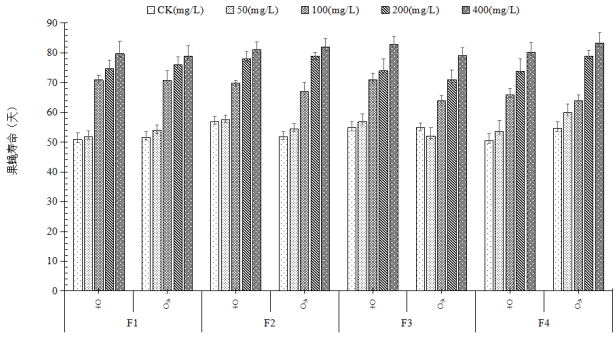

图 2 红芪加工废弃物多糖对果蝇世代寿命的影响

Fig.2 Effect of polysaccharides extract from *Hedysarum polybotrys* processed waste on generational generation life of fruit flies

2.3 红芪加工废弃物多糖对果蝇超氧化物歧化酶活性的影响

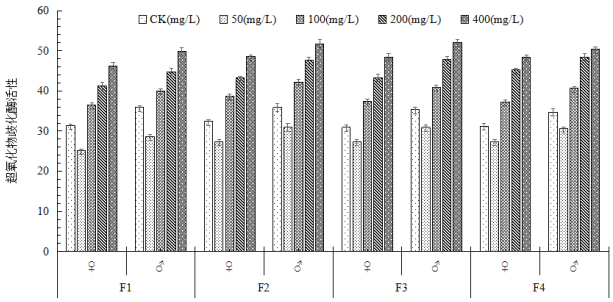

图 3 红芪加工废弃物多糖对果蝇超氧化物歧化酶活性的影响

Fig.3 Effects of polysaccharides extract from *Hedysarum polybotrys* processed waste on superoxide dismutase activity of fruit flies

不同浓度红芪加工废弃物多糖对 F_1-F_4 代雌、雄果蝇体内 SOD 酶的影响结果如图 3 所示。当多糖浓度为 50 mg/L 时，与其他浓度相比，各代雌、雄果蝇体内 SOD 酶活性都保持在最低水平，与对照组相比，统计学意义为显著差异（$P < 0.05$）；随着红芪多糖浓度的逐渐升高，F_1-F_4 代雌、雄果蝇体内酶活性均出现逐渐升高的趋势，当多糖浓度升高到 100 mg/L 时，F_1-F_4 代雌、雄果蝇体内 SOD 活性与对照组相比，统计学意义为显著差异升高（$P < 0.05$）；当多糖浓度为 200~400 mg/L 时，F_1-F_4 代雌、雄果蝇体内 SOD 活性升高明显，与对照组相比，统计学意义为显著差异（$P < 0.01$）。

2.4 红芪加工废弃物多糖对果蝇过氧化氢酶活性的影响

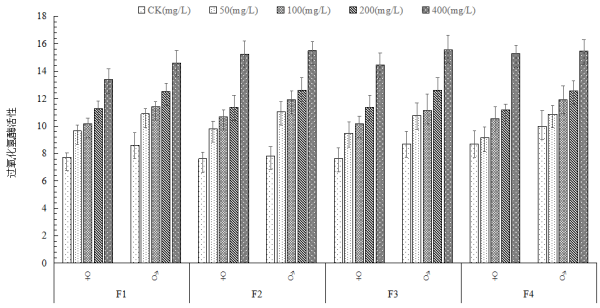

图 4 红芪加工废弃物多糖对果蝇过氧化氢酶活性的影响

Fig. 4 Effects of polysaccharides extract from *Hedysarum polybotrys* processed waste on catalase activity of fruit flies

不同浓度红芪加工废弃物多糖对 F_1-F_4 代雌、雄果蝇体内 CAT 酶的影响结果如图 4 所示。随着红芪多糖浓度的逐渐升高，F_1-F_4 代雌、雄果蝇体内 CAT 酶的活性也逐渐呈现出升高的趋势。当多糖浓度为 50 mg/L 时，F_1-F_4 代雌、雄果蝇体内 CAT 活性与对照组相比，统计学意义为显著差异（$P < 0.05$）；当多糖浓度为 100~400 mg/L 时，F_1-F_4 代雌、雄果蝇体内 CAT 活性升高明显，与对照组相比，统计学意义为极显著差异（$P < 0.01$）。

2.5 芪加工废弃物多糖对果蝇丙二醛含量的影响

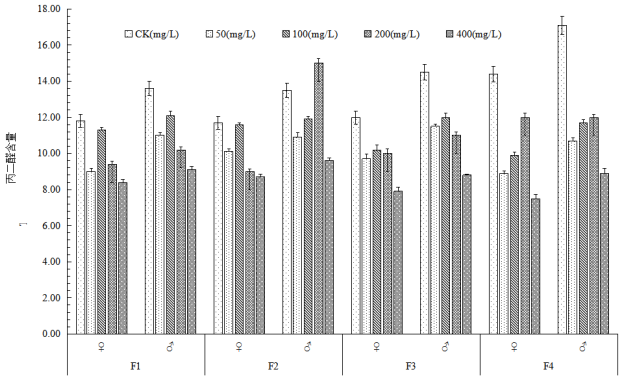

图 5 红芪加工废弃物多糖对果蝇过氧化氢酶活性的影响

Fig. 5 Effects of polysaccharides extract from Hedysarum polybotrys processed waste on malondialdehyde contents of fruit flies

不同浓度红芪加工废弃物多糖对 F_1-F_4 代雌、雄果蝇体内 MDA 含量的影响如图 5 所示。F_1-F_4 代雌、雄果蝇体内 MDA 含量随着红芪多糖浓度的升高，都呈现出先升高后降低的趋势。当多糖浓度为 50 mg/L 时，F_1-F_4 代雌、雄果蝇体内的 MDA 含量低于对照组，统计学意义为极显著差异($P < 0.01$)；当多糖浓度为 400 mg/L 时，MDA 含量低于对照组（$P < 0.01$）。随着多糖浓度的升高，红芪加工废弃物多糖对果蝇的清除 MDA 的能力逐渐提高，F_1-F_4 代雌、雄果蝇的抗氧化能力也逐渐增强。结果表明，红芪加工废弃物多糖能显著提高 F_1-F_4 代雌、雄果蝇世代 SOD 和 CAT 活性和降低 MDA 含量，提高了果蝇的抗氧化能力和生命力。同时还发现，在不同多糖浓度处理下雌性果蝇体内 SOD、CAT 活性和 MDA 含量均低于雄性果蝇体内的含量，雌性性果蝇的抗氧化作用强于雄性果蝇。

3 讨论

通过研究 4 种不同浓度的红芪加工废弃物多糖对黑腹果蝇生命力的影响，探讨了果蝇 F_1-F_4 代的生育力和寿命变化，并以 SOD 和 CAT 活性评价多糖的抗氧化活性，同时以脂质过氧化酶产物 MDA 含量为指标评价多糖清除果蝇体内自由基能力。结

果显示，不同浓度的红芪加工废弃物多糖能显著提高 F_1-F_4 代雌、雄果蝇世代的生育力，延长果蝇世代寿命，而且果蝇体内 MDA 含量呈现出明显的降低趋势，两种抗氧化酶 SOD 和 CAT 的活性得到了显著增强，有效提高了 F_1-F_4 代果蝇的抗氧化能力和生命力，促进了生殖能力，而且雌性果蝇的抗氧化作用强于雄性果蝇，F_1-F_4 代雌、雄果蝇个体数量的比值变化不大，总体接近于 1:1。

红芪多糖是一种具有多种生物活性功能的大分子物质，当红芪多糖饲喂果蝇后，对果蝇体内 SOD、CAT 活力以及 MDA 含量产生了较为明显的影响，这种结果已经表明红芪多糖与果蝇生育力、寿命和衰老之间存在一定的关系；而果蝇的衰老与体内自由基的水平以及抗氧化能力密切相关，果蝇衰老会产生过多的自由基，而这些自由基会破坏或穿透细胞膜，进而和细胞内或细胞膜上的不饱和脂肪酸发生反应，引起一系列生物化学反应，还会破坏果蝇的细胞核或细胞质中 DNA 合成，影响细胞中蛋白质等生物大分子的结构与修饰而导致疾病，甚至死亡[12]。当果蝇受到外界胁迫刺激后，体内细胞膜受到自由基的强烈生物氧化作用而产生 MDA，MDA 与生物体细胞中的蛋白质、肽类等大分子聚合后会引起机体的代谢变化，加快果蝇的衰老从而影响寿命[13-15]。SOD 和 CAT 具有很强的抗氧化活性，能清除生物体内产生的自由基，还可以降低脂质过氧化的反应而延迟衰老[15]。当多糖浓度较高时，MDA 含量急剧降低，SOD 和 CAT 的抗氧化活性显著升高，可能是多糖分子参与了果蝇体内的复杂生物化学反应，启动了果蝇主动升高 SOD 和 CAT 两种抗氧化酶的活性的机制，提高清除体内产生的 MDA 等自由基的能力，主动适应这种应激情况，增强果蝇的抗性，间接促进生育能力和延长寿命。这将为开发无毒、无副作用的抗氧化、抗衰老替代药物和功能食品提供依据，也为红芪加工废弃物的再利用和综合开发利用提供技术。

参考文献：

[1] 周海宾,沈玉君,孟海波,等. 自然村生产生活废弃物循环利用模式及其评价研究[J].农业工程学报,2018, 34(23):206-212.

[2] 赵立欣,孟海波,沈玉君,等. 中国北方平原地区种养循环农业现状调研与发展分析[J].农业工程学报, 2017,33(18):1-10.

[3] 郭玫,绍晶,余晓辉. 复方红芪颗粒中红芪多糖提取工艺筛选[J].甘肃中医学院学报,2003,20(4):18-19.

[4] 余晓辉,郭玫,绍晶. 甘肃产六种红芪中多糖的含量测定[J].现代中医药,2005,25(6):45-46.

[5] Li yulong,Lei xinyu,Yin zhenchen,et al.Transgenerational effects of paternal dietary Astragalus polysaccharides on spleen immunity of broilers[J].International Journal of Biological Macromolecules,2018,115:90-97.

[6] 舒迎霜,贺濛初,曹护群,等. 黄芪多糖对犬血清免疫球蛋白、IFN-γ 水平及分泌型 IgA 表达的影响[J].西北农业学报,2019,28(2):176-182.

[7] 叶文斌,宫峥嵘,何玉鹏,等.纹党和红芪加工废弃物中的活性多糖对Ⅱ型糖尿病小鼠血糖血脂的影响[J].甘肃农业大学学报,2020,55(2):32-39.

[8] 惠和平,封士兰,赵良功,等. 红芪多糖的纯化及初步结构鉴定[J].时珍国医国药,2010,21(9):2302-2303.

[9] 叶文斌,何玉鹏,文晓晓,等. Pb^{2+}对果蝇生育力和寿命及抗氧化能力的影响[J].首都师范大学学报:自然科学版,2019,40(3):44-49.

[10] 叶文斌,罗辉,何玉鹏,等. Zn^{2+}对果蝇生育力和寿命及抗氧化能力的影响[J].井冈山大学学报:自然科学版, 2019, 40(1):29-33.

[11] 叶文斌,王昱,王瀚,等.Zn^{2+}对铅中毒果蝇生育力、寿命及抗氧化能力的影响[J].化学与生物工程,2019, 36(2): 55-61.

[12] 周意,栾洁,刘玉香,等. 玛咖多糖对果蝇的抗衰老作用[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(18):151-154.

[13] Harman D. The aging proces[J]. Proc Natl Acad Sci USA,1981, 78(11): 7124-7128.

[14] 王菊凤,李鹄鸣. 蛹虫草多糖对果蝇种群期望寿命的影响[J].湖南农业科学, 2010 (9): 133-135.

[15] 叶文斌,王昱,何九军,等. Hg^{2+}对果蝇寿命和生育力及酯酶同工酶的影响[J]. 甘肃高师学校,2012,17(5):24-28.