

DOI: 10.12264/JFSC2020-0313

厚朴酚对嗜水气单胞菌感染异育银鲫的抗氧化因子及抗炎 *TLR-5/MyD88* 通路基因表达的影响

吴家玉^{1,2}, 陈凯², 习丙文^{1,2}, 谢骏^{1,2,3}, 潘良坤²

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, 农业农村部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 江苏 无锡 214081;

3. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 为了评价厚朴酚治疗嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)感染的效果, 本研究在构建异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)感染模型的基础上, 分析了厚朴酚对感染结果、血液生化指标、肝脏抗氧化因子、组织病理和炎症相关基因表达的影响。实验设置空白对照组、感染组、2 mg/kg、8 mg/kg、32 mg/kg 3 个厚朴酚处理组。结果显示, 厚朴酚处理能有效减少感染鱼类的死亡, 且厚朴酚处理组对异育银鲫的相对保护率分别为 60.75%、71.85%、59.95%。与感染组相比, 给予不同浓度的厚朴酚治疗后, 谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)显著下调, 总蛋白(total protein, TP)和白蛋白(albumin, ALB)含量显著上升($P<0.05$); 过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性显著提高, 还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量显著提高, 丙二醛(malonic dialdehyde, MDA)含量显著下降($P<0.05$)。组织病理结果显示, 厚朴酚在一定程度上缓解肝脏和脾脏的充血, 改善肾脏和肠道的细胞坏死。在炎症相关基因的表达方面, 8 mg/kg、32 mg/kg 浓度下的厚朴酚处理组能显著下调 *MyD88*、*NF- κ B* 和 *TNF- α* 基因的表达量, 以及明显提高 *TLR-5* 基因的表达量($P<0.05$)。由此表明, 厚朴酚能减少嗜水气单胞菌感染引起的异育银鲫死亡, 降低异育银鲫组织的氧化损伤, 下调机体炎症相关基因的表达。该研究结果可为厚朴酚未来应用于生产实践提供一定的理论基础。

关键词: 厚朴酚; 氧化损伤; 炎症; 嗜水气单胞菌; 异育银鲫; 抗氧化能力; 组织病理

中图分类号: S941

文献标志码: A

文章编号: 1005–8737–(2021)05–0579–12

嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)隶属于气单胞菌科(Aeromonadaceae), 气单胞菌属, 广泛分布于自然水域, 是淡水养殖过程中一种常见的条件致病菌^[1]。嗜水气单胞菌能引起鱼类急性出血性败血症, 主要感染的养殖种类有草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)、青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)、鲫(*Carassius auratus*)、罗非鱼(*Oreochromis* spp.)、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)等。因其对淡水养殖业造成严重经济损失, 已引发国内外广泛关注。

对因致病性嗜水气单胞菌感染所引起的水产动物疾病的预防和治疗, 目前主要依赖于抗生素和化学药物^[2], 但其不合理使用导致病原菌产生耐药性、影响机体免疫系统、破坏微生态平衡等。因此寻找高效低毒、天然绿色的抗生素替代品尤为重要。

厚朴(*Magnolia officinalis*)是传统中医学和日本汉方医学(Kampo medicine in Japan)广泛使用的一味药物, 临床多用来治疗细菌感染、炎症和胃

收稿日期: 2020-10-20; 修订日期: 2021-01-05.

基金项目: 农业农村部现代农业产业技术体系建设专项(CARS-45).

作者简介: 吴家玉(1996–), 女, 硕士研究生, 从事水产动物病害与防治研究. E-mail: 812445552@qq.com

通信作者: 谢骏, 研究员, 从事淡水渔业养殖与病害防治研究. E-mail: xiej@ffrc.cn

肠道疾病等^[3]。厚朴酚(magnolol)是厚朴提取物中重要的单体成分之一^[4],具有很好的抗炎、抗氧化、抗菌等效果。在小鼠(*Mus musculus*)模型中,厚朴酚对于 LPS 诱导的炎症反应^[5]、链脉佐菌素诱导的糖尿病心肌病^[6]、炎性介质 LTB₄ 和 5-HETE 的生成^[7]等都具有一定的抑制作用。同时,厚朴酚具有出色的抗氧化能力,能清除多余的自由基^[8]、对抗脂质过氧化^[9]、增强抗氧化酶活性^[10]。另外,厚朴酚抗菌性质稳定,对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)^[11]、口腔致龋菌^[12]、大肠杆菌(*Escherichia coli*)^[13]、双歧杆菌(*Bifidobacterium bifidum*)^[14]、鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)^[15]等均有较强的抑制作用。

目前,厚朴酚在水产领域主要还是围绕其抑菌、抗病毒^[16]以及抗寄生虫^[17]的相关研究,有关厚朴酚对嗜水气单胞菌作用于水产动物抗炎及抗氧化方面暂无相关报道。该研究在构建嗜水气单胞菌感染模型的基础上,以厚朴酚进行干预,通过分析其对异育银鲫肝脏抗氧化性能及炎症相关基因表达的影响,从抗氧化和抗炎两个方面评估厚朴酚对感染嗜水气单胞菌异育银鲫的保护效果,为厚朴酚应用于水产养殖病害与防治提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验菌株和实验用鱼

本实验所使用的嗜水气单胞菌菌株为实验室自行分离保存。菌种保存在-80℃甘油管中,使用前在血平板上划线,28℃过夜培养,挑取单克隆。异育银鲫[(50±10)g; (10±1.5)cm]由中国水产科学研究院淡水渔业研究中心南泉实验基地提供,在室内循环水养殖系统中驯化 2 周,水温 28℃,喂养期间投喂鲫鱼标准商品料。

1.2 药品和试剂

厚朴酚(99%)、椰子油购自 Aladdin 公司。NB 培养基购自青岛海博生物技术有限公司。基因转录表达分析试剂:RNAiso Plus 购自大连 TaKaRa 公司;HiFiScript gDNA Removal RT MasterMix, UltraSYBR Mixture 等购自 Cwbio 公司。血液生化检测试剂购自上海执诚生物科技有限公司;考马

斯亮蓝法蛋白定量测定试剂盒、CAT、SOD、MDA、GSH 测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.3 实验设计与样品采集

将实验鱼随机分为 5 组,每组设 3 个重复,每个重复 30 尾。参照预实验制备浓度接近半致死浓度(LC₅₀: 3×10⁶ cfu/mL)的菌液。使用 MS-222 100 mg/L 将鱼麻醉后,每尾腹腔注射 100 μL 菌液,空白对照组注射生理盐水,在攻毒 2 h 后,攻毒处理组分别注射厚朴酚(浓度/鱼体重: 0 mg/kg, 2 mg/kg, 8 mg/kg, 32 mg/kg; 注射量为 100 μL/尾; 药物溶剂为椰子油)。攻毒后连续观察 72 h (期间不给予投喂饲料),观察、记录鱼类活动情况和死亡情况。攻毒 24 h 后收集样品,每桶随机取 10 尾鱼,通过尾静脉采血(添加抗凝剂),将血液于 4℃, 3000 r/min 离心 10 min,制备血浆,冻存于-20℃。取肝脏样品并做三种处理: (1)每尾鱼样品分别浸入 RNAiso Plus 中,保存于-80℃,用于基因表达分析; (2)每尾鱼肝脏分别放入 EP 管中,保存于-20℃,用于抗氧化指标测定与分析。 (3)每桶(8 mg/kg 厚朴酚组)随机选 3 尾鱼,取肝脏、肾脏、脾脏及后肠于 10%甲醛溶液中固定。

1.4 血液生化指标测定

异育银鲫血浆样品使用全自动生化分析仪检测总蛋白(total protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)等指标。

1.5 肝脏抗氧化指标测定

称取约 0.1 g 肝脏样品,按 1:9 (质量体积比)加入生理盐水制备 10%组织匀浆,4℃暂存备用;组织中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)相关指标均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定,具体测定方法按照试剂盒上的说明进行操作,肝脏上清液蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝法测定。

1.6 病理组织学检查

组织标本用 10%甲醛溶液固定,用各级乙醇逐级脱水、石蜡包埋,切片,用于苏木精-伊红(HE)染色,显微镜下观察并拍照。

1.7 总 RNA 的提取

将保存于 RNAiso Plus 的肝脏样品于高通量组织破碎仪中充分匀浆, 静置 5 min 后于 4 ℃, 12000 r/min 离心 5 min, 小心吸取上清液转入新的 1.5 mL EP 管中。加入 1/5 RNAiso Plus 体积量的氯仿, 盖紧管口, 振荡 15 s 混匀, 静置 5 min 后 4 ℃, 12000 r/min 离心 15 min, 小心吸取不多于 80% 的上层水转入新的 1.5 mL EP 管中。加入等量的异丙醇充分混匀, 室温静置 10 min 后 4 ℃, 12000 r/min 离心 10 min。弃去异丙醇, 用 1 mL 75% 的乙醇(DEPC 水配置)洗涤沉淀后 4 ℃, 12000 r/min 离心 5 min, 弃上清, 短暂离心后吸出残余乙醇, 室温下风干 RNA 沉淀。用适量 DEPC 水溶解 RNA 沉淀, -80 ℃ 保存。

1.8 反转录

使用 NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA)测定样品 RNA 质量与浓度, 将 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值在 1.8~2.0 的样品 RNA 调整浓度至 400 ng/μL。根据 HiFiScript gDNA Removal RT MasterMix 试剂盒说明书, 对总 RNA 进行反转录实验。20 μL 反应体系如下: 1 μL 10×gDNA Eraser Buffer, 0.5 μL gDNA Eraser, 1 μL Template RNA, 用 RNase Free Water 补充至 10 μL, 混匀离心后 42 ℃ 孵育 2 min 后, 添加 1 μL HiFiScript, 1 μL Primer Mix I, 4 μL 5×RT Buffer, 4 μL RNase Free Water; 反应条件为: 42 ℃ 孵育 15 min, 85 ℃ 孵育 5 min, 得到 cDNA, 并于 -80 ℃ 保存备用。

1.9 荧光定量 PCR 测定

按照 UltraSYBR Mixture 说明书设置反应体系, 具体如下: 10 μL 2×UltraSYBR Mixture, 0.4 μL Forward Primer (10 μmol/L), 0.4 μL Reverse Primer (10 μmol/L), 2 μL Template DNA, 再用 RNase Free Water 补充至 20 μL。以 *β-actin* 作为内参基因, 使用 BIO-RAD CFX96 touch q-PCR system 仪器设置反应程序, 具体如下: 步骤 1, 95 ℃, 10 min。步骤 2, 95 ℃, 15 s; 60 ℃, 1 min; 40 个循环。步骤 3, 95 ℃, 15 s; 60 ℃, 1 min; 95 ℃, 15 s; 60 ℃, 15 s。检测 *MyD88*、*NF-κB*、*TLR-5*、*TNF-α* 表达量的变化。目的基因表达量使用标准曲线法校准, 所用引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成(表 1)。

表 1 荧光定量 PCR 所用引物

Tab. 1 Primers used for quantitative PCR	
引物 primer	序列(5'-3') sequence(5'-3')
MyD88-F	TTGGAAAGACAGCTCAGGAAG
MyD88-R	CATCAAAGGTCTCCGGTGTTAG
NF-κB-F	GCTCTGACTGCGGTCTTATAC
NF-κB-R	GCGCTTCATCGAGGATAGTT
TLR-5-F	CAACTGATCTGGTCAGAAGGAA
TLR-5-R	GTCTTTGGGAAGCGACTGTA
TNF-α-F	TCATTCCTTACGACGGCATT
TNF-α-R	CAGTCACGTCAGCCTTGCAG
β-actin-F	CTCCCTCAATCCCAAAGCCAA
β-actin-R	ACACCATCACCAGAATCCATCA

1.10 数据统计分析

所有实验数据以平均值±标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示。并使用统计软件 SPSS25.0 统计软件包中的单因素方差分析(one-way ANOVA)和 Duncan 氏多重比较, 检验各组间的差异, 不同的大小写字母表示各组之间的差异显著水平($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 厚朴酚对异育银鲫死亡率的影响

嗜水气单胞菌腹腔注射感染异育银鲫后, 观察 72 h 后得到累计死亡率(图 1)。由图 1 可知, 空白对照组 72 h 累计死亡率接近 50%, 腹腔注射厚朴酚处理组死亡率低于对照组, 其中注射浓度为 2 mg/kg 组的 72 h 累计死亡率为 39.25%, 8 mg/kg 组 72 h 累计死亡率为 28.15%, 32 mg/kg 组 72 h 累计死亡率为 40.05%, 即厚朴酚处理后对异育银鲫的相对保护率分别为 60.75%、71.85%、59.95%。实验表明厚朴酚可降低异育银鲫的死亡率。

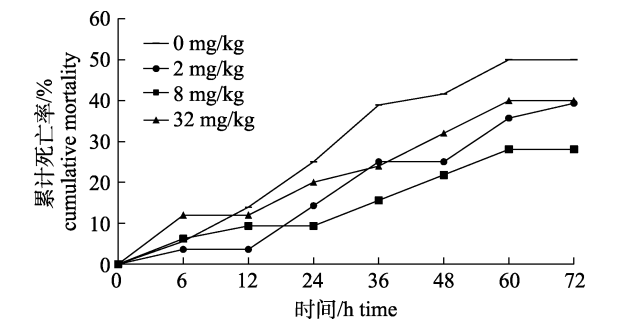


图 1 嗜水气单胞菌攻毒后不同厚朴酚注射组异育银鲫累计死亡率

Fig. 1 Cumulative mortality rate of *Carassius auratus gibelio* injected with magnolol of different concentration after *Aeromonas hydrophila* infection

2.2 厚朴酚对受嗜水气单胞菌感染鱼体的血液生化指标的影响

如表 2 所示, 异育银鲫受嗜水气单胞菌感染后, 鱼体血浆中 ALT 活性显著升高($P<0.05$); 2 mg/kg、32 mg/kg 厚朴酚处理组能显著降低被感染鱼血浆中 ALT 活性($P<0.05$); 8 mg/kg 厚朴酚处理组对被感染鱼血浆中 ALT 活性无明显改变($P>0.05$)。攻毒后异育银鲫血浆 AST 活性明显升高($P<0.05$); 8 mg/kg 厚朴酚处理组能显著降低被感染鱼血浆中 AST 活性($P<0.05$); 2 mg/kg、32 mg/kg 厚朴酚处理组对血浆中 AST 的活性有一定抑制效果, 但不显著($P>0.05$)。

感染使鱼体血浆中总蛋白 TP 含量明显降低($P<0.05$); 2 mg/kg 厚朴酚处理组能显著提高血浆中 TP 含量($P<0.05$)。嗜水气单胞菌感染使异育银鲫血浆白蛋白 ALB 含量显著降低($P<0.05$); 2 mg/kg、8 mg/kg 厚朴酚处理组能显著提高血浆中 ALB 含量($P<0.05$), 32 mg/kg 厚朴酚处理组对于 ALB 含量有一定提高作用, 但效果不显著($P>0.05$)。

鱼体感染后, 血浆 LDH 含量显著提高($P<0.05$); 32 mg/kg 厚朴酚处理组显著降低了 LDH 活性($P<0.05$), 2 mg/kg 厚朴酚处理组对于 LDH 活性有一定提高效果, 但不明显($P>0.05$); 8 mg/kg 厚朴酚处理组则显著提高了血浆 LDH 活性($P<0.05$)。

表 2 厚朴酚对异育银鲫血液生化指标的影响
Tab. 2 Effect of magnolol on blood biochemical indexes of *Crucian auratus gibelio*

n=10; $\bar{x} \pm SD$

项目 project	空白对照组 blank control	感染组/(mg/kg) infection group			
		0	2	8	32
ALT/(U/L)	8.50±0.90 ^a	11.44±1.81 ^c	9.34±1.47 ^{ab}	11.00±1.85 ^{bc}	9.26±1.85 ^{ab}
AST/(U/L)	293.49±21.99 ^b	370.74±39.76 ^c	317.67±20.71 ^{bc}	205.81±20.09 ^a	323.44±30.63 ^{bc}
TP/(g/L)	24.67±0.95 ^c	15.42±2.58 ^a	17.76±1.91 ^b	17.48±2.46 ^{ab}	16.57±1.54 ^{ab}
ALB/(g/L)	13.84±0.69 ^d	7.09±1.47 ^a	10.60±1.58 ^c	9.40±0.87 ^{bc}	8.48±0.95 ^{ab}
LDH/(U/L)	183.70±20.16 ^a	505.11±35.03 ^c	475.71±20.03 ^c	599.00±58.60 ^d	289.00±42.89 ^b

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$).
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

2.3 厚朴酚对受嗜水气单胞菌感染鱼体的肝脏抗氧化能力的影响

由图 2A 可知, 受嗜水气单胞菌感染后, 与空白对照组相比, 感染组异育银鲫肝脏 SOD 活性表现出显著下降($P<0.05$), 厚朴酚处理组则不同程度地提高了 SOD 活性, 其中 2 mg/kg 厚朴酚处理组提升效果显著($P<0.05$), 其余组之间的差异则不显著($P>0.05$)。

如图 2B 可知, 攻毒后相较于空白对照组, 感染组肝脏的 CAT 活性显著降低($P<0.05$); 经药物处理后, 2 mg/kg、8 mg/kg、32 mg/kg 厚朴酚处理组均不同程度地提高了 CAT 活性($P<0.05$), 其中 8 mg/kg 厚朴酚处理组提升效果最明显。

如图 2C 所示, 注射嗜水气单胞菌后, 感染组 GSH 含量显著低于空白对照组($P<0.05$); 2 mg/kg 厚朴酚处理组 GSH 含量显著高于感染组($P<0.05$), 其余厚朴酚处理组 GSH 含量则随药物浓度的增加而减少。

如图 2D 所示, 异育银鲫在感染嗜水气单胞菌后, 病原菌显著提高了鱼体肝脏 MDA 含量($P<0.05$); 在给予药物治疗后, MDA 含量均呈先下调状态, 其中 8 mg/kg、32 mg/kg 厚朴酚处理组显著降低了 MDA 含量($P<0.05$)。

2.4 厚朴酚对受嗜水气单胞菌感染鱼体的组织形态结构的影响

由图 3 可知, 对照组视野内异育银鲫肝脏细胞的细胞核居于细胞的中间部位, 结构清晰完整, 少量细胞具有脂肪粒; 而感染组中肝细胞核偏移, 出现明显充血; 相较于感染组, 厚朴酚组肝细胞排列更为整齐, 且充血情况改善效果明显。

由图 4 可知, 对照组脾脏组织基本正常, 存在少量含铁血黄素沉着现象; 而感染组则出现大面积的含铁血黄素沉着, 并伴有明显充血; 厚朴酚组相较于感染组, 充血现象有所改善。

由图 5 可知, 对照组的肾脏结构正常, 肾小球、肾小管结构清晰; 而感染组肾组织则呈现充

血和坏死, 炎性细胞浸润, 肾小管、肾小体部分细胞出现坏死; 厚朴酚组的肾组织结构基本正常,

肾小球、肾小管结构清晰, 伴有少量充血。
由图 6 可知, 对照组肠道结构中, 肠绒毛细

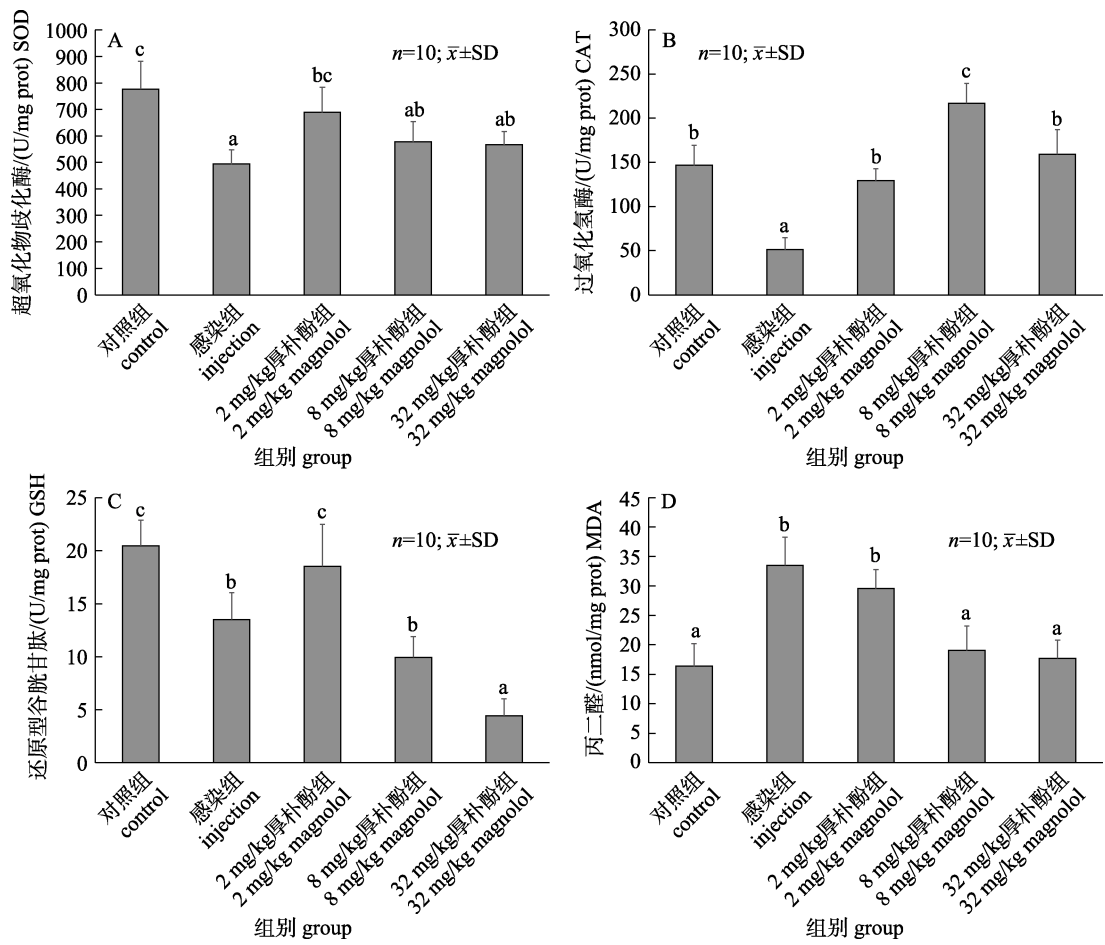


图 2 厚朴酚对异育银鲫肝脏抗氧化指标的影响
柱上不同字母表示组间差异显著($P < 0.05$).

Fig. 2 Effects of magnolol on antioxidant capacity in the liver of *Carassius auratus gibelio*
Different letters on the column indicate significant difference between groups ($P < 0.05$).

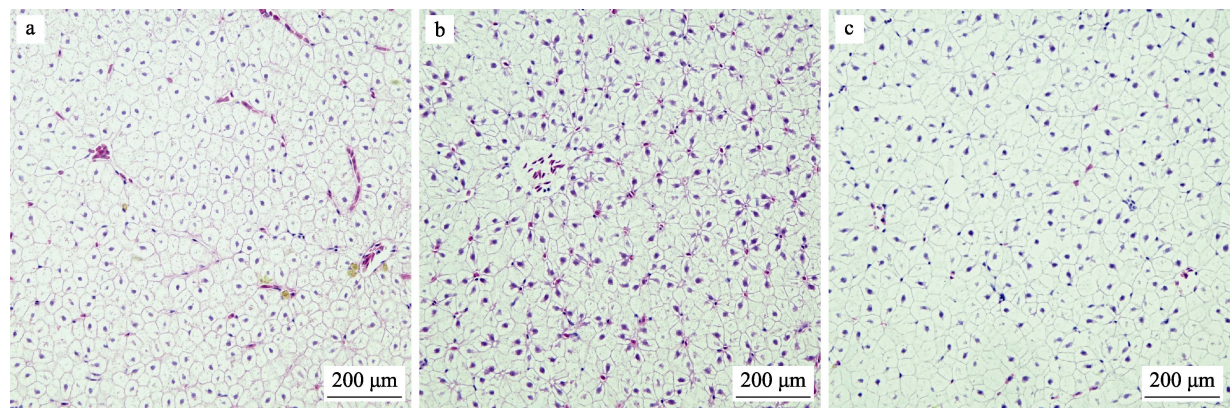


图 3 各实验组异育银鲫肝脏的组织切片
a. 对照组; b. 感染组; c. 厚朴酚注射组.

Fig. 3 Liver tissue sections of *Carassius auratus gibelio* in each experimental group
a. Control group; b. Infection group; c. Magnolol injection group.

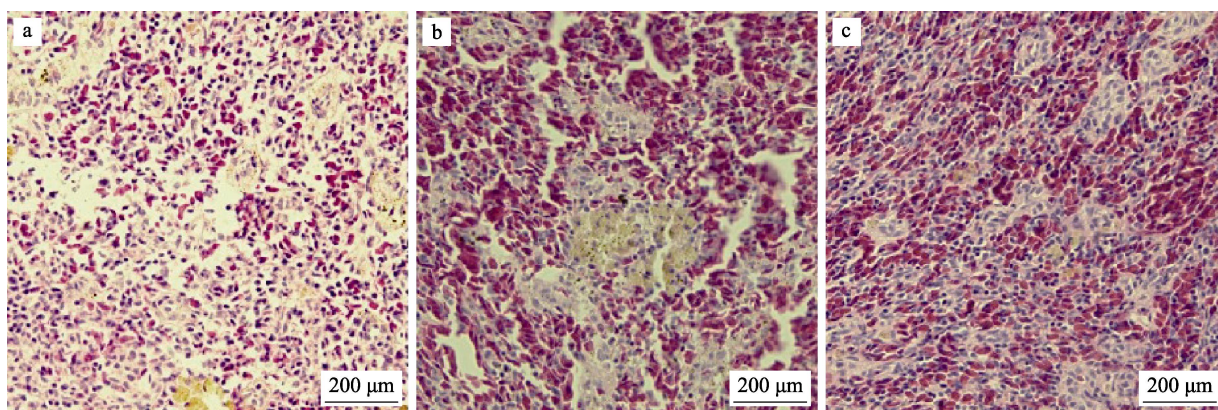


图 4 各实验组异育银鲫脾脏的组织切片

a. 对照组; b. 感染组; c. 厚朴酚注射组.

Fig. 4 Spleen tissue sections of *Carassius auratus gibelio* in each experimental group
a. Control group; b. Infection group; c. Magnolol injection group.

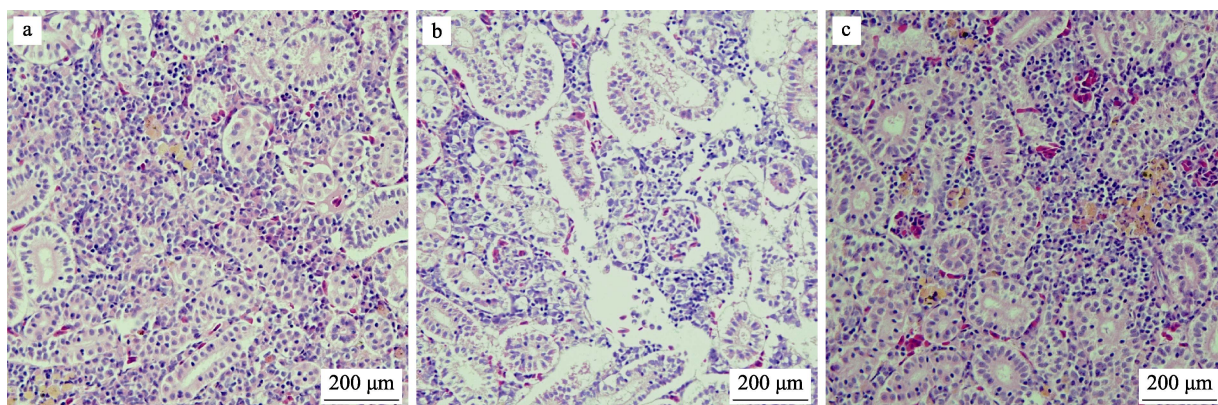


图 5 各实验组异育银鲫体肾的组织切片

a. 对照组; b. 感染组; c. 厚朴酚注射组.

Fig. 5 Kidney tissue sections of *Carassius auratus gibelio* in each experimental group
a. Control group; b. Infection group; c. Magnolol injection group.

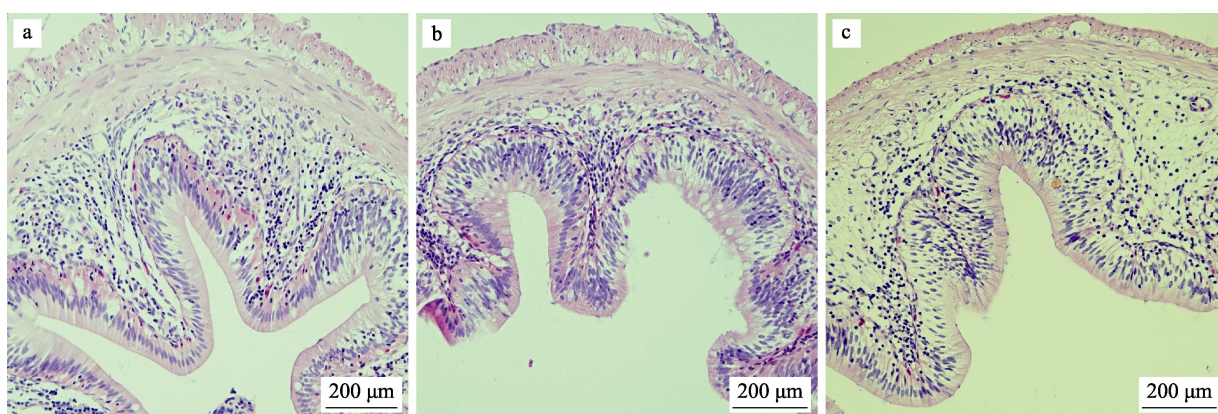


图 6 各实验组异育银鲫肠道的组织切片

a. 对照组; b. 感染组; c. 厚朴酚注射组.

Fig. 6 Intestinal tissue sections of *Carassius auratus gibelio* in each experimental group
a. Control group; b. Infection group; c. Magnolol injection group.

胞结构完整, 呈指状排列, 形态较好, 存在少量杯状细胞且呈稀疏分布; 感染组中肠道组织结构损伤, 肠绒毛缺损, 出现大量的杯状细胞和炎性细胞; 相比感染组, 厚朴酚组肠道组织中的杯状细胞明显减少, 肠绒毛结构完整, 炎性细胞减少。

2.5 厚朴酚对受嗜水气单胞菌感染鱼体炎症相关基因表达的影响

如图 7A 所示, 在注射嗜水气单胞菌后, 与空白对照组相比, 感染组 *TLR-5* mRNA 表达量显著上升($P<0.05$); 与感染组相比, 2 mg/kg 厚朴酚处理组显著提高了 *TLR-5* mRNA 的表达量($P<0.05$), 而 8 mg/kg、32 mg/kg 厚朴酚处理组基因表达量则无显著性差异($P>0.05$)。

如图 7B 所示, 与空白对照组相比, 感染组 *MyD88* mRNA 表达量显著性上调($P<0.05$)。通过

药物处理后, 厚朴酚处理组表达量相较感染组各有不同。其中 2 mg/kg 的厚朴酚处理组 *MyD88* mRNA 表达量无显著性差异($P>0.05$); 8 mg/kg、32 mg/kg 的厚朴酚处理组 *MyD88* mRNA 表达量则显著下降($P<0.05$), 其中 *MyD88* mRNA 表达量在注射浓度为 8 mg/kg 厚朴酚时达到最低。

如图 7C 所示, 鱼体在受到嗜水气单胞菌感染后, 与空白对照组相比, 感染组 *NF- κ B* mRNA 表达量显著提高($P<0.05$); 与感染组相比, 在 2 mg/kg 浓度下的厚朴酚处理组 *NF- κ B* mRNA 表达量无显著性差异($P>0.05$); 8 mg/kg、32 mg/kg 的厚朴酚处理组 *NF- κ B* mRNA 表达量则显著下降($P<0.05$)。

如图 7D 所示, 攻毒后相较于空白对照组, 感染组 *TNF- α* mRNA 表达量呈显著上调($P<0.05$); 而与感染组相比, 2 mg/kg、8 mg/kg 厚朴酚处理组

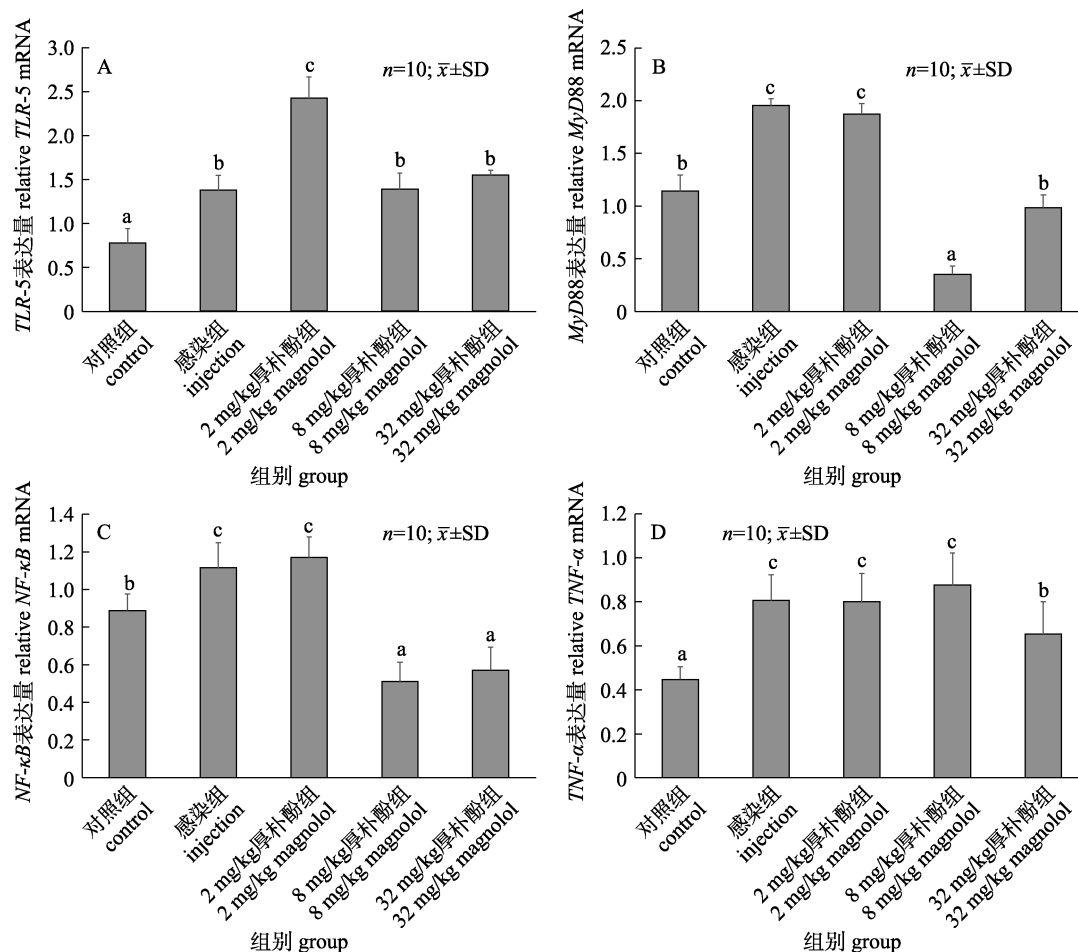


图 7 厚朴酚对育银鲫肝脏组织炎症相关基因表达变化的影响

柱上不同字母表示组间差异显著($P<0.05$)。

Fig. 7 Effect of magnolol on expression of inflammation-related genes in *Carassius auratus gibelio* liver. Different letters on the column indicate significant difference between groups ($P<0.05$).

无显著性差异($P>0.05$), 给药浓度为 32 mg/kg 的厚朴酚处理组则显著下降($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 厚朴酚对鱼体受嗜水气单胞菌感染损伤的影响

鱼类血液生化指标可直观地反映鱼体健康、营养状况及对环境的适应情况^[18]。谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)属于非血浆特异性酶家族, 主要存在于肝脏、心脏、肾脏、肌肉等器官中。在机体处于健康状态下, 血液中 ALT 和 AST 活性低且相对恒定, 但当肝脏等组织受到损伤或受到环境胁迫时, 血液中这两种酶的活性将升高, 因此 ALT 和 AST 活性的变化可反映出鱼体肝细胞的损伤程度。另外, 鱼体乳酸脱氢酶(LDH)含量增高, 也是病鱼组织受损的表征。范慧慧等^[19]研究发现, 香鱼(*Plecoglossus altivelis*)感染嗜水气单胞菌后, 血清 ALT、AST 和 LDH 三项指标显著上升。罗辉等^[20]也发现齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)在感染嗜水气单胞菌 48 h 后, 血清中 ALT 和 AST 活性出现了显著上调。同样, 本研究发现异育银鲫在感染嗜水气单胞菌后, ALT、AST 和 LDH 显著增加, 一定程度上表明鱼体受到病原菌感染后, 肝脏出现损伤, 从而导致血浆中酶含量上调; 而通过厚朴酚处理后的鱼体 ALT、AST 和 LDH 出现不同程度的下调, 在大鼠(*norvegicus Rattus*)败血症模型及酒精性肝损伤模型中, 厚朴酚同样能够显著抑制由 LPS 和乙醇引起的 ALT 和 AST 的升高^[21-22], 一定程度上表明, 厚朴酚能提高机体抗损伤的能力。但在厚朴酚浓度为 8 mg/kg 时, LDH 出现显著上调的现象, 在关于黄芪多糖^[23]对小鼠肝脏保护实验以及徐长卿提取物^[24]作用于受损内皮细胞实验中, 出现了同样的现象, 但出现这一结果的原因还有待进一步研究。

肝脏作为机体重要的代谢器官, 具有解毒作用, 易受到外界侵害而引发炎症反应。肾脏是鱼类主要的排泄器官, 能排出体内代谢废物, 维持体内渗透压平衡, 是鱼类新陈代谢的重要组成部分。脾脏是鱼类的免疫器官, 也是重要的造血器官。本研究中, 鱼体受到嗜水气单胞菌感染后, 组

织出现了不同程度的损伤: 肝脏、脾脏和肾脏都出现不同程度的充血, 肾脏和肠道还伴有炎性细胞浸润, 部分上皮细胞出现坏死, 这与草鱼幼鱼^[25]、金钱鱼(*Scatophagus argus*)^[26]、斑马鱼(*Brachydanio rerio*)^[27]感染嗜水气单胞菌后症状相同。在给予厚朴酚治疗后, 各器官受损程度出现改善。有研究发现, 厚朴酚可以抑制四丁酚醛(Tyloxapol)引起的肝脏的脂质积聚从而降低炎症、氧化应激带来的机体损伤^[28]; 对大肠杆菌导致的腹泻具有一定的修复作用, 能维持肠道黏膜结构完整性, 保护黏膜抵抗损伤或促进黏膜修复^[29]。

3.2 厚朴酚对鱼体肝脏抗氧化能力的影响

鱼类的抗氧化系统由抗氧化酶[如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等]和非酶抗氧化物质[如还原型谷胱甘肽(GSH)等]组成, 对于机体抵御氧化应激和维持机体氧化还原状态的动态平衡起着重要作用^[30]。其中 SOD、CAT、GSH 等能清除多余的自由基, 减少氧化损伤。因此, 抗氧化系统中各成分的活性和含量往往能反映机体氧化受损的程度^[31]。与此同时, 脂质过氧化是氧化损伤的重要表现, 丙二醛(MDA)作为脂质过氧化的终产物, 也被作为指示生物氧化损伤的重要指标^[32]。本次研究观察到异育银鲫在受到嗜水气单胞菌感染后, 肝脏中 SOD 和 CAT 活性显著下调, GSH 含量显著下降, MDA 含量显著上升($P<0.05$)。这与褶纹冠蚌(*Cristaria plicata*)^[33]、中华鳖(*Trionyx sinensis*)^[34]、草鱼^[35]、团头鲂^[31]等在感染嗜水气单胞菌后的情况一致。由此显示嗜水气单胞菌感染会扰乱宿主的氧化-抗氧化系统平衡, 对宿主造成氧化损伤。因此对于宿主抗氧化能力的提高将有利于宿主对抗嗜水气单胞菌感染。已有研究证实厚朴酚是非常高效的自由基清除剂, 能有效清除 DPPH、ONOO⁻¹ 和 O₂^[36], 此外, 在果蝇(*Drosophila melanogaster*)的相关研究中还发现其对过氧化物和羟基自由基清除作用^[37]。因此本研究中厚朴酚对异育银鲫的保护作用很可能与抗氧化能力相关, 而本研究中厚朴酚处理后确实观察到了异育银鲫抗氧化能力的改善以及死亡率的降低($P<0.05$)。在涉及大鼠缺血损伤^[38-39]、大肠杆菌感染^[40], 以及心脏线粒体脂质过氧化^[41]、

小鼠糖尿病^[42]的研究中也证实了厚朴酚通过改善机体抗氧化能力, 如提高抗氧化相关酶类(SOD、CAT)活性, 发挥对相关疾病进程的干预作用进而对机体产生保护效果。

3.3 厚朴酚对鱼体炎症相关基因表达的影响

在本研究中, 异育银鲫在感染嗜水气单胞菌后, *TLR-5*、*MyD88*、*NF-κB* 和 *TNF-α* 的表达量均显著上调($P<0.05$), 说明鱼体在感染病原菌后, 引起了体内炎症反应; 而通过厚朴酚的处理能显著抑制后三者的表达, 但 *TLR-5* 表达量出现显著上调($P<0.05$), 表明在一定程度上, 厚朴酚能减弱机体的免疫应激。有研究表明, 对于患急性坏死性胰腺炎的小鼠, 厚朴酚能抑制 *NF-κB* 和 *TNF-α* 在其肺组织中的表达^[43], 而同样的情况也出现在脂多糖诱导的小鼠炎症模型中^[5]; 朱为勇等^[44]认为厚朴酚对 *NF-κB* 活性的抑制作用主要表现在抑制 *IKBα* 及 *p65* 的磷酸化。关于 *TLR-5*, 在哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)感染斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)后, *TLR-5s* 在肝脏中表达量显著升高^[45]。受嗜水气单胞菌侵染的齐腹裂口鱼 *TLR-5* 同样也在各个组织中显著上调, 但与本实验不一样的是, 齐腹裂口鱼在不同温度环境条件下饲喂不同浓度的酸解氧化魔芋葡甘露聚糖(AOKGM)后发现, 在 22 °C 的条件下, AOKGM 能显著增加肠道 *TLR-5* 的表达, 而温度在 12 °C 时却明显相反^[46]。由此推测, 厚朴酚对于 *TLR-5* 表达的影响可能是因为饲养温度或给药方式的不同, 从而导致结果不同。

综上所述, 厚朴酚对于感染嗜水气单胞菌的异育银鲫具有一定的保护效果, 能降低异育银鲫的死亡率, 而这种保护作用和其提高宿主抗氧化能力, 降低宿主炎症反应相关。

参考文献:

- [1] Qiu J Q, Yang X L, Cheng X J. Advances in the characteristics and pathogenic mechanisms of virulence factors in *Aeromonas hydrophila*[J]. Journal of Pathogen Biology, 2009, 4(8): 616-619. [邱军强, 杨先乐, 程训佳. 嗜水气单胞菌毒力因子特性及作用机理研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2009, 4(8): 616-619.]
- [2] Zhang Y Q, Li Q L. Pathogenicity and control of *Aeromonas hydrophila*[J]. Guangxi Agricultural Sciences, 2007, 38(5): 565-568. [张运强, 李庆乐. 嗜水气单胞菌的致病性及其防治方法[J]. 广西农业科学, 2007, 38(5): 565-568.]
- [3] Weng T I, Wu H Y, Kuo C W, et al. Honokiol rescues sepsis-associated acute lung injury and lethality via the inhibition of oxidative stress and inflammation[J]. Intensive Care Medicine, 2011, 37(3): 533-541.
- [4] Zhang Y, Tang F. Advance in latest studies on pharmacological effects of magnolol[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2012, 37(23): 3526-3530. [张勇, 唐方. 厚朴酚药理作用的最新研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(23): 3526-3530.]
- [5] Mo S Y, Zhong Q B, Cai Z X, et al. Preliminary study on the anti-inflammatory effect of magnolol on LPS-induced mice [J]. Journal of Hainan Medical University, 2019, 25(5): 335-338, 342. [莫斯喻, 钟淇滨, 蔡肇栩, 等. 厚朴酚对 LPS 致炎小鼠抗炎效应的初步研究[J]. 海南医学院学报, 2019, 25(5): 335-338, 342.]
- [6] Chen X, Yu W H, Gong X H, et al. Protective effects of magnolol against cardiac injuries via attenuating of mitogen-activated protein kinase (MAPK)/nuclear factor κB (NF-κB)-mediated inflammatory response in type 1 diabetic mice[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2017, 48(22): 4719-4725. [陈雄, 虞伟慧, 龚小花, 等. 厚朴酚通过 MAPK/NF-κB 信号通路改善 1 型糖尿病模型小鼠的心肌损伤[J]. 中草药, 2017, 48(22): 4719-4725.]
- [7] Li J P, Liang T, Zhou K Y. Effect of magnolol on the activity of 5-lipoxygenase and the level of intracellular Ca^{2+} in rat leukocytes[J]. Journal of Guangdong Medical College, 2002, 20(3): 177-178. [李杰萍, 梁统, 周克元. 厚朴酚对大鼠白细胞 5-脂氧合酶活性和细胞内钙离子浓度的影响[J]. 广东医学院学报, 2002, 20(3): 177-178.]
- [8] Amorati R, Zotova J, Baschieri A, et al. Antioxidant activity of magnolol and honokiol: Kinetic and mechanistic investigations of their reaction with peroxyl radicals[J]. The Journal of Organic Chemistry, 2015, 80(21): 10651-10659.
- [9] Kim S J, Kwon D Y, Kim Y S, et al. Peroxyl radical scavenging capacity of extracts and isolated components from selected medicinal plants[J]. Archives of Pharmacal Research, 2010, 33(6): 867-873.
- [10] Saito J, Shibuya K, Nagase H. Anti-clastogenic effect of magnolol on benzo(a)pyrene-induced clastogenicity in mice[J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(2): 694-700.
- [11] Zuo G Y, Zhang X J, Han J, et al. In vitro synergism of magnolol and honokiol in combination with antibacterial agents against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)[J]. BMC Complementary and Alternative

- Medicine, 2015, 15(1): 425.
- [12] Liang X Y, Kong J J, Li C N, et al. Application of honokiol in the prevention and treatment of caries[J]. Journal of Modern Stomatology, 2017, 31(3): 172-175. [梁向阳, 孔晶晶, 李春年, 等. 厚朴酚在龋病预防及治疗中的运用[J]. 现代口腔医学杂志, 2017, 31(3): 172-175.]
- [13] Lee H J, Song J Y, Kim B S. Biological synthesis of copper nanoparticles using *Magnolia kobus* leaf extract and their antibacterial activity[J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2013, 88(11): 1971-1977.
- [14] Li P L, Shi X D, Lü Y N, et al. The in vitro growth effect of three kinds Chinese traditional medicines on helpful microbe of intestines[J]. Journal of China Agricultural University, 2003, 8(5): 33-36. [李平兰, 时向东, 吕燕妮, 等. 常见中草药对两种肠道有益菌体外生长的影响[J]. 中国农业大学学报, 2003, 8(5): 33-36.]
- [15] Khadke S K, Lee J H, Woo J T, et al. Inhibitory effects of honokiol and magnolol on biofilm formation by *Acinetobacter baumannii*[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2019, 24(2): 359-365.
- [16] Chen X H. Antiviral mechanism research of magnolol and honokiol against grass carp reovirus[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2017. [陈晓慧. 厚朴酚/和厚朴酚抗草鱼呼肠孤病毒作用机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.]
- [17] Song C G. Antiparasitic efficacy and mechanism research of magnolol against *Ichthyophthirius multifiliis* in gold fish[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2018. [宋晨光. 厚朴酚抗多子小瓜虫活性及机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.]
- [18] Wang Y M, Chen B, Wang G X, et al. Effects of dietary mulberry leaf flavonoids on growth performance, antioxidant indices, and anti-hypoxic stress ability of *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(10): 1184-1195. [王咏梅, 陈冰, 王国霞, 等. 饲料中添加桑叶黄酮对凡纳滨对虾生长性能、抗氧化指标及抗胁迫能力的影响[J]. 中国水产科学, 2020, 27(10): 1184-1195.]
- [19] Fan H H, Zhang C N, An Q, et al. The pathological changes in blood indices of Ayu (*Plecoglossus altivelis*) infected with *Aeromonas hydrophila*[J]. Fisheries Science, 2012, 31(5): 280-282. [范慧慧, 张呈念, 安钦, 等. 香鱼嗜水气单胞菌人工染病后血液生理生化指标变化[J]. 水产科学, 2012, 31(5): 280-282.]
- [20] Luo H, Yang Y J, Xiang M B, et al. Blood biochemical indices and histopathology of the *Schizothorax prenanti* during early stage of infection by *Aeromonas hydrophila*[J]. Freshwater Fisheries, 2017, 47(4): 44-50. [罗辉, 杨月静, 向梦斌, 等. 齐口裂腹鱼感染嗜水气单胞菌后血液生化指标与组织病理学研究[J]. 淡水渔业, 2017, 47(4): 44-50.]
- [21] Tsai Y C, Cheng P Y, Kung C W, et al. Beneficial effects of magnolol in a rodent model of endotoxin shock[J]. European Journal of Pharmacology, 2010, 641(1): 67-73.
- [22] Liu X, Wang Y N, Wu D, et al. Magnolol prevents acute alcoholic liver damage by activating PI3K/Nrf2/PPAR γ and inhibiting NLRP3 signaling pathway[J]. Frontiers in Pharmacology, 2019, 10: 1459.
- [23] Yuan C W, Ding S, Zhang X, et al. Influence of β -CP on hepatic energy metabolism in mice and protective effects of APS[J]. Occupation and Health, 2016, 32(21): 2936-2938. [袁从文, 丁爽, 张祥, 等. 高效氯氰菊酯对小鼠肝脏能量代谢的影响及黄芪多糖的保护作用[J]. 职业与健康, 2016, 32(21): 2936-2938.]
- [24] Li Y, Sun S G, Xie Y P, et al. The influence of *Cynanchum* Extract on lactate dehydrogenase, tumor necrosis factor and interleukin-8 activity in endothelial injury cells[J]. China Medical Herald, 2013, 10(28): 10-12. [李阳, 孙世光, 谢予朋, 等. 徐长卿提取物对损伤内皮细胞中乳酸脱氢酶、肿瘤坏死因子及白细胞介素-8 活性的影响[J]. 中国医药导报, 2013, 10(28): 10-12.]
- [25] Jiang Z L, Li C T. Effect of *Aeromonas hydrophila* isolated from *Pelteobagrus fulvidraco* on liver, kidney, and spleen of juvenile grass carp[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(10): 5946-5949. [蒋自立, 李春涛. 黄颡鱼嗜水气单胞菌对草鱼幼鱼肝·肾和脾的影响[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(10): 5946-5949.]
- [26] Zhang Q H, Ma W Y, Chen B, et al. Research on *Aeromonas hydrophila* caused bacteria disease in spotted scat (*Scatophagus argus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2016, 40(4): 634-643. [张庆华, 马文元, 陈彪, 等. 嗜水气单胞菌引致的金钱鱼细菌性疾病[J]. 水产学报, 2016, 40(4): 634-643.]
- [27] Lin J X, Yang C, Feng L P, et al. Identification of *Aeromonas hydrophila* and histopathological observation of artificial infected zebrafish[J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(9): 239-245. [林金杏, 杨迟, 冯丽萍, 等. 斑马鱼嗜水气单胞菌的鉴定和人工感染组织病理学研究[J]. 生物技术通报, 2016, 32(9): 239-245.]
- [28] Tian Y. The signaling mechanism of magnolol intervenes in lipid accumulation and inflammatory responses[D]. Changchun: Jilin University, 2018. [田野. 厚朴酚干预脂质积聚和炎症反应的信号机制[D]. 长春: 吉林大学, 2018.]
- [29] Deng Y L. Studies on the anti-bacterial diarrhea and molecule mechanism of magnolol and honokiol[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2012. [邓燕莉. 厚朴酚与和厚朴酚抗腹泻作用及分子机理研究[D]. 长沙: 湖南农业

- 大学, 2012.]
- [30] Xu C N, Zeng J, Yuan Q, et al. Effect of dibutyl phthalate on the antioxidant and epidemic prevention systems of *Mytilus coruscus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(8): 934-942. [许彩娜, 曾姣, 袁骐, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对厚壳贻贝抗氧化防疫系统的影响[J]. 中国水产科学, 2020, 27(8): 934-942.]
- [31] Ming J H. Effects of emodin and vitamin C on growth, non-specific immunity and stress resistance of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*, Yih)[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011. [明建华. 大黄素和维生素C对团头鲂生长、非特异性免疫以及抗应激的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.]
- [32] Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction[J]. Analytical Biochemistry, 1979, 95(2): 351-358.
- [33] Wu D, Li Y, Hu B Q, et al. Changes in the levels of the antioxidant factors in *Cristaria plicata* infected with *Aeromonas hydrophila*[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2011, 37(5): 531-536. [吴丹, 李琰, 胡宝庆, 等. 嗜水气单胞菌感染后褶纹冠蚌抗氧化因子的变化[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2011, 37(5): 531-536.]
- [34] Du Z J, Xia J, Luo M L, et al. Protective effect of Gln on *Pelodiscus sinensis* against *Aeromonas hydrophila* infection[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2014, 33(2): 254-260. [杜宗君, 夏晶, 骆美琳, 等. 谷氨酰胺对嗜水气单胞菌致病中华鳖的保护作用[J]. 四川动物, 2014, 33(2): 254-260.]
- [35] Hu K, Li S A, Feng L, et al. Protective effect of *myo*-inositol on oxidative damage of head kidney and spleen in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) induced by *Aeromonas hydrophila*[J]. Journal of Fisheries of China, 2019, 43(10): 2256-2267. [胡凯, 李双安, 冯琳, 等. 肌醇对嗜水气单胞菌致生长期草鱼头肾和脾脏氧化损伤的保护作用[J]. 水产学报, 2019, 43(10): 2256-2267.]
- [36] Zhao C, Liu Z Q. Comparison of antioxidant abilities of magnolol and honokiol to scavenge radicals and to protect DNA[J]. Biochimie, 2011, 93(10): 1755-1760.
- [37] Wang Y, Wu X, Weng X C. Effects of magnolol on life-span and fertility of *Drosophila melanogaster*[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2006, 25(4): 700-702. [王沂, 吴翔, 翁新楚. 厚朴酚对果蝇寿命和繁殖力的影响[J]. 四川动物, 2006, 25(4): 700-702.]
- [38] Zhang G Q, Chen S Z, Hao X M, et al. The protective effect of magnolol on cerebral ischemia[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2003, 19(9): 1020-1023. [张广钦, 陈世忠, 郝雪梅, 等. 厚朴酚对脑缺血的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(9): 1020-1023.]
- [39] Chen H Y, Hung Y C, Lee E J, et al. The protective efficacy of magnolol in hind limb ischemia-reperfusion injury[J]. Phytomedicine, 2009, 16(10): 976-981.
- [40] Deng Y L, Liu Y, Tang S X, et al. General machine learning model, review, and experimental-theoretic study of magnolol activity in enterotoxigenic induced oxidative stress[J]. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2017, 17(26): 2977-2988.
- [41] Lo Y C, Teng C M, Chen C F, et al. Magnolol and honokiol isolated from *Magnolia officinalis* protect rat heart mitochondria against lipid peroxidation[J]. Biochemical Pharmacology, 1994, 47(3): 549-553.
- [42] Wang J J, Zhao R, Liang J C, et al. The antidiabetic and hepatoprotective effects of magnolol on diabetic rats induced by high-fat diet and streptozotocin[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2014, 49(4): 476-481. [王俊俊, 赵容, 梁继超, 等. 厚朴酚对高脂饲料-STZ 诱导的糖尿病大鼠血糖血脂及肝脏氧化应激损伤的影响[J]. 药理学报, 2014, 49(4): 476-481.]
- [43] Li Z M, Han S X, Xu Z P, et al. Magnolol alters cytokine response and relieves acute lung injury induced by acute necrotizing pancreatitis in rats[J]. World Chinese Journal of Digestology, 2006, 14(12): 1167-1171. [李贞茂, 韩盛玺, 徐志鹏, 等. 厚朴酚对大鼠坏死性胰腺炎肺损伤的保护作用[J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(12): 1167-1171.]
- [44] Zhu W Y, Tang Y S, Gai Y H, et al. Protective effect of honokiol on vascular endothelial cell injury induced by oxidized low density lipoprotein and a study on mechanism[J]. Chinese Journal of Evidence-Based Cardiovascular Medicine, 2018, 10(9): 1079-1083. [朱为勇, 唐元升, 盖延红, 等. 厚朴酚对 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤的保护作用及其机制研究[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2018, 10(9): 1079-1083.]
- [45] Lin K B, Ge H, Lin Q, et al. Characterization and analysis of *TLR5S* gene from *Epinephelus coioides*[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2013, 52(1): 109-115. [林克冰, 葛辉, 林琪, 等. 斜带石斑鱼 *TLR5S* 基因结构及功能分析[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2013, 52(1): 109-115.]
- [46] Lyu Z Z. Effects of acidolysis oxidized konjac glucomannan on immune function of *Schizothorax prenanti* and discussing[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2017. [吕珍珍. 酸解氧化魔芋葡甘露聚糖对齐口裂腹鱼免疫功能的影响研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2017.]

Effects of magnolol on antioxidant factors and the anti-inflammatory *TLR-5/MyD88* pathway gene expressions of *Carassius auratus gibelio* infected with *Aeromonas hydrophila*

WU Jiayu^{1,2}, CHEN Kai², XI Bingwen^{1,2}, XIE Jun^{1,2,3}, PAN Liangkun²

1. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China;

2. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuxi 214081, China;

3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: To evaluate the therapeutic effect of Magnolol on *Aeromonas hydrophila* infections, the effects of magnolol on infection results, blood biochemical indexes, liver antioxidant factors, tissue pathology, and inflammation-related gene expression were analyzed based on the construction of a *Carassius auratus gibelio* infection model. Blank control, infection group, and 2 mg/kg, 8 mg/kg, and 32 mg/kg magnolol treatment groups were set up. The results showed that magnolol treatment could effectively reduce mortality in infected fish, with relative protection rates of *C. auratus gibelio* treated with magnolol at 60.75%, 71.85%, and 59.95%, respectively. Compared with the infection group, in the treatment groups, ALT, AST, and LDH were significantly decreased, TP and ALB content was significantly increased ($P<0.05$), CAT and SOD activities were significantly increased, GSH content was significantly increased, and MDA content was significantly decreased ($P<0.05$). Histopathological results showed that honokiol alleviated congestion of the liver and spleen to some extent and reduced cell necrosis in the kidneys and intestines. In terms of the expression of inflammation related genes, magnolol treatment significantly decreased the expression of *MyD88*, *NF- κ B*, and *TNF- α* but significantly increased the expression of *TLR-5* ($P<0.05$). These results indicate that magnolol can reduce mortality from *A. hydrophila* infections in allogynogenetic crucian carp, reduce oxidative tissue damage, and downregulate the expression of inflammation-related genes. The results provide a theoretical basis for the application of magnolol in commercial applications.

Key words: magnolol; oxidative damage; inflammation; *Aeromonas hydrophila*; *Carassius auratus gibelio*; antioxidant capacity; tissue pathology

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