

免疫添加物对大黄鱼血液白细胞数量及其吞噬功能的影响*

王 军¹ 鄢庆枇^{1,2} 苏永全¹ 周永灿^{1,3} 邵 勋¹

(¹厦门大学海洋学系, 亚热带海洋研究所 361005)

(²集美大学水产学院 厦门 361021)

(³海南大学水产系 海口 570228)

提要 采用低聚糖益力素、稳定型维生素 C、渔用多维等免疫、营养添加物定期投喂大黄鱼, 以粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、吞噬百分率、吞噬指数等为指标, 跟踪检测试验大黄鱼血液中白细胞组成数量和吞噬细胞吞噬能力的变化。研究结果表明, 免疫添加物可以提高大黄鱼血液中白细胞数量和吞噬细胞的吞噬能力, 增强大黄鱼的非特异性免疫功能, 促进大黄鱼的健康生长。

关键词 免疫添加物, 大黄鱼, 白细胞组成, 吞噬功能

大黄鱼 *Pseudosciaena crocea* 是福建最重要的网箱养殖种类, 2000 年初养殖网箱达到 320 000 多箱, 预计产量 35 000 t。随着养殖规模的扩大, 各种病害也频繁发生^[1,2], 严重威胁着大黄鱼养殖业的健康发展。有关大黄鱼的病害特别是由致病菌引起的疾病, 目前普遍采用抗生素进行防治。但抗生素防治效果不理想, 而且有许多毒副作用^[3]。鉴于此, 国内外一些学者 Blan Crowder 1982 年、叶孝经 1990 年、王雷 1994 年、沈锦玉 1997 年、杜爱芳 1997 年应用免疫防治法进行

病害研究, 取得一定的效果。本试验采用了低聚糖益力素, 维生素等营养、免疫添加物投喂大黄鱼, 以提高其免疫机能, 减少病害的发生。

1 材料与方 法

1.1 材 料

* 国家 863 计划 819-02-012 项目资助。

收稿日期: 2001-02-06; 修回日期: 2001-05-08

试验鱼：1999年春苗，全长21~29 cm，体重130~280 g。

养殖网箱：试验点选在连江县厦宫乡养殖渔排，设有试验网箱21个(每箱500~800尾)，对照组网箱28个(500~700尾/箱)。时间2000年2~9月。

1.2 方法

1.2.1 添加物 低聚糖益力素为北京智水生物技术有限公司产品，稳定型维生素C(93%)和渔用多维为杭州高成生物营养技术有限公司产品。

1.2.2 添加物的使用 低聚糖益力素、维生素C和渔用多维的用量分别是：益力素：饲料=25：30 000；维生素C：饲料=25：50 000；渔用多维：饲料=25：50 000。用鳗料做为粘合剂，按比例将上述添加物与“福星”牌大黄鱼膨化饲料混合投喂，以8d为一服用期，间隔时间15d。

1.2.3 生物学测量 每个月进行1~2次生物学测定，每次取试验组和对照组标本各10尾，称量体重和全长。

1.2.4 血液白细胞组成测定 从尾动脉取血，用NH₄Cl溶解红细胞，尔以后以海水鱼生理盐水进行适当稀释，用血球计数板分别对粒细胞、单核细胞和淋巴细胞进行计数。

1.2.5 吞噬细胞吞噬能力的测定 (a)用无菌注射器从大黄鱼尾动脉取血，立即加入2滴于盛有0.02ml

表1 试验与对照组大黄鱼的体长、体重测量结果

Tab.1 The length and weight of tested and controlled *Pseudosciaena crocea*

时间 (月.日)	体长(cm)		体重(g)	
	试验组	对照组	试验组	对照组
5.07	22.86	22.12	148.30	133.30
5.25	26.50	25.80	199.00	177.40
6.23	27.10	26.10	216.30	179.90
7.18	27.60	26.40	234.70	193.40
8.15	28.90	27.50	275.00	229.20
9.04	29.80	28.10	260.00	241.80

注：每组数据均为10尾鱼的平均值。

肝素的洁净凹玻片的凹孔中，轻轻搅动混匀；(b)用滴管加1滴白色葡萄球菌菌液(6×10^8 细菌/ml)于凹孔内，充分混匀；(c)将凹玻片置于有数层湿纱布的预温带盖容器内，37℃温育30min；(d)取一滴全血-葡萄球菌混合液于洁净载玻片上，推成薄片，室温待干；(e)滴加甲醇固定3~4min，用水冲洗，晾干；(f)用碱性美蓝染色2~3min，水冲洗晾干；(g)置油镜观察，随机计数100个多形核白细胞中吞噬有细菌的细胞数，即为吞噬百分率(%)，再数此100个多形核白细胞中所吞噬的细菌总数，除以100，得出每个细胞吞噬细菌平均数，即为吞噬指数。

2 结果

2.1 大黄鱼的生长

生物学测定结果表明，在相似养殖管理情况下，服用低聚糖和多维等营养、免疫添加物的试验组大黄鱼在体长和体重的生长上均优于对照组大黄鱼，试验组比对照组增重2.6~45.8g/尾，增长0.4~1.7cm/尾(表1)。

2.2 大黄鱼血液白细胞数量

虽然不同时间测得大黄鱼血液中各类白细胞的数量有一定波动，试验组大黄鱼在粒细胞、单核细胞和淋巴细胞3个指标的数量上均不同程度地高于对照组大黄鱼。试验组大黄鱼粒细胞、单核细胞和淋巴细胞的平均值分别为： 7.16×10^8 ， 1.05×10^8 和 4.17×10^8 ；而对照组的分别为： 5.74×10^8 ， 0.75×10^8 和 3.38×10^8 (表2)。t检验结果表明，试验组和对照组大黄鱼的单核细胞数量变化上存在显著性差异(|t|=5.2369 > $t_{0.005}=2.571$, $P < 0.05$)，试验组大黄鱼的粒细胞和淋巴细胞的计数结果虽然

表2 试验组与对照组大黄鱼血液中的各类白细胞数量

Tab.2 The quantity of leucocytes in the blood of tested and cotrolled *P. crocea*

日期 (月.日)	白细胞数量($\times 10^8$)					
	试验组			对照组		
	粒细胞	单核细胞	淋巴细胞	粒细胞	单核细胞	淋巴细胞
5.07	5.97	1.23	3.00	3.36	0.55	2.80
5.25	6.85	1.20	3.45	5.75	0.64	2.80
6.23	8.55	0.95	4.80	6.40	0.58	3.15
7.18	6.45	0.84	3.45	5.30	0.68	2.80
8.15	6.35	0.87	3.95	5.65	0.55	3.05
9.04	8.80	1.20	6.40	8.00	0.75	5.70

表3 试验组与对照组大黄鱼吞噬细胞的吞噬功能

Tab.3 The phagocytosis of phagocyte in tested and controlled *P. crocea*

日期 (月.日)	吞噬能力			
	试验组		对照组	
	吞噬百分率(%)	吞噬指数	吞噬百分率(%)	吞噬指数
5.07	73.2	1.697	65.4	1.580
5.25	62.0	1.650	51.3	1.367
6.23	72.5	1.750	70.0	1.680
7.18	79.0	1.763	72.5	1.595
8.15	81.2	1.825	73.2	1.613
9.04	80.0	1.782	72.8	1.580

也明显高于对照组,但尚未达到统计学上的显著差异。

2.3 大黄鱼白细胞的吞噬功能

试验测定结果表明试验组大黄鱼吞噬细胞的吞噬百分率为62%~81.2%,吞噬指数则介于1.65~1.83之间,对照组大黄鱼的吞噬细胞的吞噬百分率为51.3%~73.2%,吞噬指数1.37~1.68(表3)。*t*检验结果表明,试验组和对照组大黄鱼吞噬细胞的吞噬指数存在显著差异($|t|=3.497 > t_{0.005}=2.571, P < 0.05$)。

3 讨论

鱼类抗传染免疫中主要靠体液免疫和细胞免疫,在细胞免疫中,血液中的白细胞起着重要的作用。白细胞中的粒细胞、单核细胞和淋巴细胞都与机体的抗传染免疫有密切联系,其中的嗜中性颗粒白细胞和单核细胞都具有较强的吞噬作用,而单核细胞渗出血管后进入组织和器官,可进一步分化发育成巨噬细胞而具有最强的吞噬能力,它们是机体非特异性免疫的重

要组成部分。因此,通过测定鱼类血液中白细胞的组成及其吞噬功能,可以反映出被测鱼类机体的免疫状态。本试验通过检测服用营养、免疫添加物的大黄鱼与对照组大黄鱼血液中白细胞组成数量及吞噬能力变化,证实了定期、定量给养殖大黄鱼投喂低聚糖、渔用多维等营养、免疫添加物可以有效提高其血液中粒细胞、单核细胞和淋巴细胞的数量及白细胞的吞噬能力。在试验期间,试验网箱大黄鱼成活率达98%,远远高于对照网箱60%的成活率,以及试验组大黄鱼在体长和体重的增长上均优于对照组的結果也清楚表明提高试验鱼血液中白细胞的数量确实能有效地增强试验鱼非特异性免疫机能,减少其疾病的发生,确保其健康生长。可见,在养殖鱼的饲料中定期定量地添加免疫物是减少养殖鱼病害发生的有效手段,值得在今后养殖生产中加以大力推广。

参考文献

- 1 林克冰等.海洋科学,1999,4:58~62
- 2 全汉锋等.中国水产,1997,4:30~31
- 3 潘连德等.水产科技情报,1998,25(4):169~173

EFFECTS OF THE IMMUNE ADDITIVES ON THE QUANTITY AND PHAGOCYTOSIS OF LEUCOCYTES IN *Pseudosciaena crocea*

WANG Jun YAN Qing-pi SU Yong-quan ZHOU Yong-can SHAO Xun
(Department of Oceanography & Institute of Subtropical Oceanography, Xiamen University 361005)

Received: Feb., 6, 2001

Key Words: Immune additives, *Pseudosciaena crocea*, Leucocytes, Phagocytosis

Abstract

The immune additive (i.e. oligo-sacchrose, stable vitamin C and complex vitamin B.K.E.) on the quantity and phagocytosis of leucocytes in *Pseudosciaena crocea* were studied in this paper. The results showed: 1) The numbers of leucocytes (i.e. lymphocyte, monocyte, granulocyte etc.) in the tested fish blood were richer than those in the controlled ones; 2) The phagocytosis functions of the these fish leukocyte were much stronger, the rates of the growth and survive were much higher; 3) By supplying the oligo-sacchrose, stable vitamin C and complex vitamin mixed with the diets (1% respectively) to feed *P. crocea*, the tested fish could enhance the non-special immunities and alleviate the disease suffering.

(本文编辑:刘珊珊)