

## 饲料添加陈皮对草鱼淋巴细胞转化率影响的研究\*

丁 光, 陈振昆, 李 梅, 李国治  
( 云南农业大学动物科学技术学院, 云南 昆明 650201 )

**摘要:** 在草鱼基础饵料中添加 0.2%, 0.3%, 0.4% 陈皮, 45 d 后测定实验组和对照组的淋巴细胞转化率平均分别为 65.73%, 75.84%, 58.19% 和 61.97%, 0.3% 组与对照组、0.4% 组比较, 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。表明陈皮作为饲料添加剂可明显提高草鱼免疫功能。

**关键词:** 陈皮; 草鱼; 淋巴细胞; 转化率

中图分类号: S 965.112; S 963.736 文献标识码: A 文章编号: 1004-390X(2003)04-0401-03

## Studies on Transformation Rate of Lymphocyte in Grass Carp Influenced by Adding Orange Peel to Base Feed

DING Guang, CHEN Zhen-Kun, LI Mei, LI Guo-Zhi  
( College of Animal Science and Technology, Y A U, Kunming 650201, China )

**Abstract:** Orange peels were added to the basic feed of grass carp. The average transformation rate of lymphocyte was determined 60 days later. The values for the treatment and control groups were 57.59% and 47.26%, respectively and there was a significant difference between them ( $P < 0.05$ ). The result showed that orange peel could greatly improve the immune function of grass carp by using as a feed additive.

**Key words:** orange peel; grass carp; lymphocyte; transformation efficiency;

中草药作为饲料添加剂中国早在公元前二世纪就有记载, 据报道在水产动物饲料中添加一定量的中草药添加剂, 可以起到诱食剂的作用, 经研究陈皮对草鱼和鲤鱼<sup>[1,2]</sup>、龙胆对鲫鱼、多香果等对泥鳅和鲫鱼、大蒜素对罗非鱼等都有较强的诱食作用<sup>[3]</sup>。中草药添加剂还能提高水产动物的摄食率, 降低饵料系数, 促进水产动物的生产和增重; 而且还能提高动物体的免疫功能, 可抗菌、杀菌、保肝、保肾, 防治多种水产动物疾病, 提高其成活率<sup>[3~5]</sup>。中草药的有效成分极为复杂, 除有多种起营养作用的物质、有机酸、生物碱、多糖、挥发油等外, 还含有多方面的免疫活性物质<sup>[6~8]</sup>。应用免疫增强剂来提高水产动物非特异免疫能力以预防水产动物疾

病是行之有效的方法之一。

中草药添加剂对鱼类免疫功能的影响曾有报道, 简纪常等研究了以黄芪为主药的中药配方对建鲤 NBT 阳性细胞数、溶菌酶活力的影响<sup>[9]</sup>, 罗庆华研究了杜仲叶粉对鲤鱼的增重率、血清中凝集抗体效价、白细胞的吞噬活性、攻毒后的存活率的影响<sup>[10]</sup>, 卢彤岩等研究了黄芪、板蓝根对免疫器官的重量变化、白细胞吞噬能力的影响<sup>[11]</sup>, 李爱华等研究了一种中草药对鲫鱼免疫功能的促进作用<sup>[12]</sup>。结果证明, 这些中草药均不同程度地可提高鱼体的免疫功能, 而中草药添加剂对鱼类淋巴细胞转化率影响的研究尚未见报道。凡参与免疫应答或与免疫应答有关的细胞统称为免疫细胞, 包括淋巴细

\* 收稿日期: 2003-01-06

基金项目: 云南省自然科学基金项目(2001C0038M)

作者简介: 丁光(1944-)女, 昆明市人, 教授, 主要从事水产及动物科学的教学与研究。

胞、单核细胞、巨噬细胞、粒细胞、肥大细胞和辅佐细胞等,在免疫应答过程中,起核心作用的是淋巴细胞<sup>[13]</sup>。本研究测定了饵料中添加陈皮后对草鱼淋巴细胞转化率的影响,为陈皮作为饲料添加剂在鱼病防治中起到的免疫防治功能提供一定科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料的来源与处理

试验草鱼取自云南昆明海埂养鱼塘。试验用鱼首先放入实验室内 1 个贴有白瓷砖的水泥池中,加入 4% 食盐进行鱼体消毒,后放入室内另外 2 个贴有白瓷砖的水泥池中暂养 1 周。

### 1.2 实验条件

试验在室内 4 个塑料集物箱(80 cm × 50 cm × 60 cm)中进行,箱上加罩铁丝网,防止鱼跳出。每个集物箱内配有增氧泵,水温(20 ± 2) °C, pH 7.0 ~ 7.5,水溶解氧 7 mg/L 以上。实验用水为生活用地下水。

### 1.3 饵料准备

以麦麸 36.00%, 玉米粉 30.00%, 鱼粉 8.00%, 菜子饼 20.00%, 植物油 2.00%, 矿物质添加剂 1.00% 和羧甲基纤维素钠 3.00% 为原料,配合为基础饵料,含蛋白质 19.21%, 脂肪 6.66%, 以基础饵料作对照组饵料,在基础饵料中各添加 0.2%, 0.3% 和 0.4% 的陈皮粉作为试验组饵料。

各组饵料均在试验开始前制作,将以上原料充分拌匀,加适量水调和,用小型软颗粒饲料机加工成约长 1 cm,粗 0.5 cm 的配合颗粒饲料,经日晒或恒温箱 60 °C 干燥备用。

### 1.4 实验方法

试验开始前 7 d,投喂基础饵料,保证鱼饱食,观察鱼正常吃食,无病,随机取体质正常的暂养鱼各 10 条,平均体重 276 g,平均体长 29.5 cm,分别放入 4 个集物箱中。对照组草鱼投喂基础饵料,试验组草鱼投喂添加不同量陈皮的饵料。饲料每天早晚各喂一次(8:30, 18:00),投饵量掌握在可供鱼摄食 24 h 而略有剩余。每隔 1 d 对集物箱都进行清洗和换水,换水量为整个水体积的 1/2 ~ 2/3 左右。饲养 45 d 后各组随机取样 4 条鱼,用灭菌注射器从鱼体尾部动、静脉抽取血液 0.5 mL,无菌操作注入含有 PHA 营养液的小瓶内,混合,置 37 °C 温箱内培养,3 ~ 4 d 后去上清液,加入 37 °C 预温的 0.87% NH<sub>4</sub>Cl 溶液 3 mL,溶解红细胞,离心,制片,根据淋巴细胞转化的形态特征采用形态学检查法,观察 200 个淋巴细胞,按公式计算<sup>[14]</sup>:

$$\text{转化率} = \frac{\text{过渡型} + \text{母细胞}}{\text{淋巴细胞总数}} \times 100\%$$

## 2 结果和讨论

(1) 各组草鱼的淋巴细胞转化率见表 1。

表 1 草鱼的淋巴细胞转化率

Tab. 1 Trans transformation rate of lymphocyte of grass carp

组别	淋巴细胞转化率/%				总和(T <sub>i</sub> )	平均 $\bar{x}_i$
对照组	63.75	60.00	67.60	56.54	247.89	61.97
0.2%	69.80	66.85	64.57	62.50	263.72	65.93
试验组	75.86	73.06	76.04	78.39	303.35	75.84
0.4%	52.00	53.00	57.81	69.95	232.76	58.19
					1 047.72	65.48

表 2 不同含量组指标统计检验(LSD 检验)

Tab. 2 Statistics and test of indexes of different containing group (LSD test)

组别	平均数 $\bar{x}_i$	$\bar{x}_i - 58.19$	$\bar{x}_i - 61.97$	$\bar{x}_i - 65.93$
0.3% 组	75.84	17.65**	13.87**	9.91*
0.2% 组	65.93	7.74	3.96	
对照组	61.97	3.78		
0.4% 组	58.19			

注: \*\* 为差异极显著; \* 为差异显著

经 LSD 检验进行多重比较结果见表 2。

(2) T 淋巴细胞在体外培养时受到特异性抗原或非特异性抗原(如植物血凝素 - PHA)的刺激,可转化为淋巴母细胞,并进行有丝分裂。因此,可用 T 细胞转化实验计算在 PHA 刺激下转化成母细胞的数目,以反映体内 T 淋巴细胞的细胞免疫功能<sup>[14]</sup>。本研究添加陈皮 0.2%, 0.3% 试验组,草鱼的淋巴细胞转化率较对照组提高了 3.96% 和

13.87% (见表1), 经 LSD 检验进行多重比较,  $LSD_{0.05} = 7.91$ ,  $LSD_{0.01} = 11.08$ , 从表2可知, 0.3% 组的淋巴细胞转化率极显著地高于对照组和 0.4% 组 ( $P < 0.01$ ), 也显著地高于 0.2% 组 ( $P < 0.05$ ), 其余各组差异不显著<sup>[15]</sup>, 表明陈皮作为中草药饲料添加剂对草鱼淋巴细胞转化率有显著的作用。可显著提高草鱼非特异性免疫功能, 是一种新的中草药免疫增强剂, 添加量以 0.3% 为佳, 其用量最小, 效果显著。

(3) 陈皮是一种来源广、价廉、加工方便的中药材, 有理气健脾、燥湿化痰等功效, 常作为健胃药和健脾消食、清热、补养等药配伍, 用于畜禽饲料添加剂<sup>[7]</sup>。经作者研究证明, 在草鱼饲料中添加一定量的陈皮, 对草鱼不但有较强的诱食作用, 而且能显著提高其免疫功能, 对免疫防治鱼类病害的发生有广阔的应用前景。

#### [参 考 文 献]

- [1] 陈振昆, 丁光. 陈皮对草鱼诱食作用的研究[J]. 云南农业大学学报, 1996, 11(1): 35-38.
- [2] 丁光, 陈振昆, 徐宝明. 在饲料中添加柑桔或甜橙外果皮对鲤鱼诱食作用的比较研究[J]. 水产科学, 1999, 18(1): 16-19.
- [3] 向泉, 周兴华. 中草药添加剂在水产动物营养中的作用[J]. 粮油食品科技, 2000, 8(3): 29-31.
- [4] 谢中权, 牛树琦. 天然物中草药饲料添加剂大全[M]. 北京: 学苑出版社, 1996.
- [5] 陈焕铨, 蔡就祥. 生物活性添加剂在鱼、虾、蟹等饲料中的应用效果[J]. 饲料研究, 2000, (12): 3-4.
- [6] 张兆华. 中草药添加剂有效成分及免疫机理的研究[J]. 中国饲料, 1997, (13): 20-22.
- [7] 李呈敏. 中药饲料添加剂[M]. 北京: 农业出版社, 1994.
- [8] 吴德峰. 试析渔用中草药饲料添加剂[J]. 兽药与饲料添加剂, 2000, 5(2): 24-25.
- [9] 简纪常, 吴灶和. 中草药对建鲤非特异性免疫功能的影响[J]. 大连水产学院学报, 2002, 17(2): 114-119.
- [10] 罗庆华. 杜仲叶粉对鲤鱼免疫力的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2002, 28(1): 51-53.
- [11] 卢彤岩, 刘红柏, 杨雨辉. 两种中草药对鲤鱼非特异性免疫功能的研究[J]. 鱼类病害研究, 2001, 23(3): 85.
- [12] 李爱华, 王文博, 蔡桃珍, 等. 一种中药对鲫鱼免疫功能的促进作用[J]. 鱼类病害研究, 2001, 23(3): 84.
- [13] 王世若, 王兴龙, 韩文瑜. 现代动物免疫学[M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 1996.
- [14] 刘玉斌, 苟仕金. 动物免疫学实验技术[M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 1989.
- [15] 徐继初. 生物统计及实验设计[M]. 北京: 农业出版社, 1992.