



水产学报  
*Journal of Fisheries of China*  
ISSN 1000-0615, CN 31-1283/S

## 《水产学报》网络首发论文

题目： 中草药复方及其与抗生素联用对斜带石斑鱼溶藻弧菌病的治疗效果  
作者： 徐晓津, 李秀华, 马一帆, 李慧耀, 祁欣, 郑江, 吕海龙, 鄢庆枇  
收稿日期： 2018-12-05  
网络首发日期： 2019-04-24  
引用格式： 徐晓津, 李秀华, 马一帆, 李慧耀, 祁欣, 郑江, 吕海龙, 鄢庆枇. 中草药复方及其与抗生素联用对斜带石斑鱼溶藻弧菌病的治疗效果[J/OL]. 水产学报. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1283.s.20190423.1350.006.html>



**网络首发：**在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认：**纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

# 中草药复方及其与抗生素联用对斜带石斑鱼溶藻弧菌病的治疗效果

徐晓津<sup>1,2</sup>, 李秀华<sup>3</sup>, 马一帆<sup>4</sup>, 李慧耀<sup>1,2</sup>, 祁欣<sup>1,2</sup>, 郑江<sup>1,2</sup>, 吕海龙<sup>1,2</sup>, 鄢庆枇<sup>1,2</sup>✉

(1.集美大学水产学院, 鳗鲡现代产业技术教育部工程研究中心, 福建 厦门 361021;

2.福建天马科技股份集团有限公司, 福建福州 350308;

3.厦门医学院附属第二医院中医科, 福建 厦门 361021;

4.厦门大学海洋与地球学院, 福建 厦门 361005)

✉通信作者 鄢庆枇, E-mail: yanqp@jmu.edu.cn

**摘要** 通过药物体外抑菌效果与对斜带石斑鱼抗病力影响研究, 筛选有效治疗斜带石斑鱼溶藻弧菌病复方中药与中西药联用配方。用诃子、白芍、甘草比例分别为 0.9:1.3:0.9、1.2:0.9:1.0、1:1:1 的复方中药对溶藻弧菌进行体外抑菌实验; 将质量分数为 2.2% 复方中草药与中西药联用复方添加到基础饲料中设为实验组。研究中西药对石斑鱼溶藻弧菌病治疗效果。中药复方实验组 I、II、III 为投喂饲料中添加不同比例诃子、白芍、甘草。中西药联用复方实验组 IV、V、VI 分别为投喂饲料中添加不同比例诃子、白芍、甘草、恩诺沙星。结果表明复方中药配方三药物浓度 200 mg/mL, 为最佳配方。40 d 病鱼死亡数量比较为对照组 II > 对照组 IV > 对照组 III > 实验组 III > 实验组 II > 实验组 I > 实验组 V > 实验组 VI > 实验组 IV > 对照组 I。实验组 I 喂饲料加诃子:白芍:甘草为 0.9:1.3:0.9 的中药复方, 实验组 IV 配方为诃子:白芍:甘草:恩诺沙星为 0.9:1.3:0.9:1.3, 分别为治疗鱼病效果最好的复方中药与中西药联用配方。中西药联用复方药效强于中药复方, 均能较好治疗斜带石斑鱼溶藻弧菌病。

**关键词** 斜带石斑鱼; 溶藻弧菌; 复方中药; 恩诺沙星

中图分类号 S 968.43

文献标志码 A

DOI: 10.11964/jfc.20181211565

## Effect of traditional Chinese compound prescription and antibiotics preventing *Vibrio alginolyticus* diseases of *Epinephelus coioides*

XU Xiaojin<sup>1,2</sup>, LI Xiuhua<sup>3</sup>, MA Yifan<sup>4</sup>, LI Huiyao<sup>1,2</sup>, QI Xin<sup>1,2</sup>, ZHENG Jiang<sup>1,2</sup>, LÜ Hailong<sup>1,2</sup>, YAN Qingpi<sup>1,2</sup>✉

(1. Fisheries College, Engineering Research Center of the Modern Technology for Eel Industry, Ministry of Education, Jimei University, Fujian Province, Xiamen 361021, China;

2. Fujian Tianma Science and Technology Group Co., Ltd., Fuzhou 350308, China;

3. Department of Traditional Chinese Medicine, Second Affiliated Hospital of Xiamen Medical College, Xiamen 361021, China;

收稿日期: 2018-12-05

基金项目: 福建省自然科学基金 (2016NZ0001-3, 2018J01455); 国家自然科学基金 (31702384); 省高校产学研合作项目 (2016N5009); 鳗鲡现代产业技术教育部工程研究中心开放基金 (16PZY002SF18)

英文基金项目: Funding projects: Science Foundation of the Fujian Province, China (2016NZ0001-3, 2018J01455); National Natural Science Foundation of China (31702384); Cooperation Project between Industry and University from Fujian Provincial Department of Science and Technology (2016N5009); Fund of Engineering Research Center of the Modern Technology for Eel Industry, Ministry of Education (16PZY002SF18)

网络首发时间: 2019-04-24 09:38:45 网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1283.s.20190423.1350.006.html>

4.College of Marine and Earth, Xiamen University, Xiamen 361005,China)  
 ✉YAN Qingpi. E-mail:yanqp@jmu.edu.cn

**Abstract** The antibacterial effect of the drugs against *Vibrio alginolyticus in vitro* and the drugs on the resistance to diseases of *Epinephelus coioides* were studied.. This study aimed to screen of traditional Chinese medicines formula and Chinese and western medicines formula which can prevent *V. alginolyticus* diseases of *E. coioides*. We had the bacteriostatic test on traditional Chinese medicines formula against *V. alginolyticus in vitro*. The ratio of *Terminalia chebula*, *Radix Paeoniae Albae* and *Licorice* of Chinese medicines formulas I, II, III are 0.9 : 1.3 : 0.9、1.2 : 0.9 : 1.0、1 : 1 : 1 respectively. The groups with 3 replicates per treatment of feed containing the drugs feed additives at 2.2% respectively, were fed to *E.coioides*. The ratio of *T. chebula*, *R. Paeoniae Albae* and *Licorice* were different in Chinese medicines formulas trial group I, II, III. The ratio of *T. chebula*, *R. Paeoniae Albae*, *Licorice* and enrofloxaci were different in Chinese and western medicines formulas trial group IV, V, VI. Results reveal that The concentrations of Chinese medicines formulas III (200 mg/mL) was the best formula. The mortality for 40 d in test groups were as follows, control group II > control group IV > control group III > trial group III > trial group II > trial group I > trial group V > trial group VI > trial group IV > control group I. The ratio of *T. chebula*, *R. Paeoniae Albae* and *Licorice* of Chinese medicines formula I is 0.9 : 1.3 : 0.9. The ratio of *T. chebula*, *R. Paeoniae Albae*, *Licorice* and enrofloxaci in Chinese and western medicines formula IV were different. These are the best formulas. The Chinese and western medicines formula is better than the Chinese medicines formula. Results showed that by adding the formulas, the capacity of disease resistance can be improved.

**Key words** *Epinephelus coioides*; *Vibrio alginolyticus*; Chinese medicines formula; enrofloxaci

石斑鱼是海南、福建、广东等中国南方地区的主导优良养殖品种之一。近年来,随着石斑鱼养殖规模的不断扩大和养殖密度的增加,各种石斑鱼病害频发<sup>[1]</sup>, 给其养殖业带来严重的经济损失。溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*)是严重危害鱼、虾、贝等海水养殖动物的致病菌, 包括卵形鲳鲹 (*Trachinotus ovatus*)<sup>[2-3]</sup>、大黄鱼 (*Larimichthys crocea*)<sup>[4]</sup>、红笛鲷 (*Lutjanus sanguineus*)<sup>[5]</sup>等, 溶藻弧菌导致的病害发病迅速, 死亡率较高<sup>[10, 11]</sup>。近年来在我国南方沿海和台湾地区有不少报道。石斑鱼溶藻弧菌病害日益严重<sup>[5-9]</sup>, 经济损失大<sup>[2-3]</sup>。严重威胁水产养殖业的溶藻弧菌病的治疗是当前重点。随着抗生素的广泛应用, 耐药性细菌不断出现, 给治疗带来困难。抗生素导致药物残留<sup>[6]</sup>。中草药在水产动物疾病防治方面起到良好的作用<sup>[5, 7-9, 12]</sup>, 研究与开发中草药治疗鱼病具有广阔的前景。复方中药比单方中药药效更强。黄芩 (*Radix acutellariae*)、葛根 (*Puerarin*)、黄连 (*Coptidis rhizoma*)、金银花 (*Honeysuckle*)和板蓝根 (*Isatidis Radix*)等复方中药能提高凡纳滨对虾免疫和抗病毒能力<sup>[13]</sup>。许多中草药已被用于鱼类饲料添加剂。不少学者们已进行中草药进行对虾、鳗等病害防治<sup>[14, 15]</sup>。但未有中药治疗石斑鱼病害效果的研究。

在本实验前期中药与西药对溶藻弧菌体外抑菌研究表明, 60 mg/mL 的诃子 (*Terminalia chebula*)、白芍 (*Radix paeoniae Alba*)、甘草 (*glycyrrhiza uralensis*)组成三联复方中药对溶藻弧菌的抑菌圈为  $25.822 \pm 0.876$  mm, 抑菌作用极敏感。恩诺沙星对溶藻弧菌抑菌圈直径为  $30.549 \pm 1.576$  mm, 药物敏感性结果为高敏。本研究将这几种中药复方与中西药联用复方药物拌入饲料, 投喂人工攻毒的患有溶藻弧菌病的斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*), 进行中药复方与中西药联用配方治疗效果比较研究, 探讨复方中药、中西药联用合理、有效的使用剂量, 为石斑鱼溶藻弧菌病防治提供理论依据。

## 1 材料与方方法

### 1.1 不同配方复方中药对溶藻弧菌体外抑制效果比较

**供试菌种** 溶藻弧菌菌液由集美大学水产学院国家海洋局渔用疫苗工程中心实验室保存<sup>[9]</sup>。溶藻弧菌分离自患病石斑鱼, 将保存的溶藻弧菌分别用 LB 液体培养基于 28 °C 下恒温培养 8~12 h, 取对数生长期的菌液。用磷酸盐缓冲液 (PBS) 调整菌液 OD 值为 0.5 (含菌量约为  $10^8$  cfu/mL), 置于 4 °C 冰箱内保存备用。

**通过细菌体外抑制实验筛选复方三联中药配方** 采用本实验室筛选的中药三联配方诃子、白芍、甘草, 中西药联用配方诃子、白芍、甘草、恩诺沙星。复方中药配方一诃子、白芍、甘草比例为 0.9 : 1.3 : 0.9, 复方中药配方二诃子、白芍、甘草比例为 1.2 : 0.9 : 1.0, 复方中药配方三诃子、白

芍、甘草比例为 1:1:1。诃子、白芍、甘草购于江阴天江药业有限公司。将中药配方颗粒溶解于无菌蒸馏水中,置于玻璃小管中,再置于盛有沸水的烧杯,并隔水加热 0.5 h,使中药充分溶解。中药颗粒剂溶液相当于生药的质量浓度为 200 mg/mL、220 mg/mL 和 240 mg/mL。

**复方三联中药对溶藻弧菌体外抑菌活性测定** 采用牛津杯法,在平板中倒入 10 mL 灭菌后的 LB 固体培养基,待凝固后,用镊子轻轻在每个培养皿中等距离放入 4 个牛津杯,浸入培养基中。取 15 mL 的 LB 液体培养基混匀,并倒入平板,凝固后取出牛津杯,将溶藻弧菌稀释至  $10^8$  cfu/mL,用移液枪吸取 0.1 mL 菌悬液,滴入平板,用涂布器涂匀,用移液枪在 1 个孔中加入 200  $\mu$ L 的无菌水为对照组,在另 3 个孔中用移液枪加入含生药 240 mg/mL 三种不同药液 200  $\mu$ L,置于 28  $^{\circ}$ C 条件下恒温培养 18~24 h,观察抑菌圈,并用 SupcreG1 菌落计数/筛选/抑菌圈测量联用仪(杭州迅数科技有限公司)测量抑菌圈大小,每个实验 3 次重复。计算平均值,进行对比研究,根据抑菌圈直径大小判定其抑菌能力的强弱。结果判定标准:抑菌直径 $\geq$ 20 mm 为极敏感“+++”,15 mm $\leq$ 抑菌直径 $<$ 20 mm 为高敏“++”,10 mm $\leq$ 抑菌直径 $<$ 15 mm 为中敏“+”,抑菌直径 $<$ 10 mm 低敏或无效“-”。

## 1.2 不同配方复方中药与中西药联用复方治疗石斑鱼溶藻弧菌病比较

**实验药材** 诃子、白芍、甘草购于厦门连福堂药店,将中药用中药粉碎机粉碎(FW177,天津市泰斯特仪器有限公司)粉碎至约 150  $\mu$ m,然后放入超微粉碎机(三清振动微粉机,SQW-60,山东三清不锈钢设备有限公司)中进一步粉碎,直至颗粒粒径大小为 5~10  $\mu$ m,收集超微药粉备用。组成诃子、白芍、甘草三联中药复方与诃子、白芍、甘草、恩诺沙星中西药联用复方。实验基础饲料由福建天马科技集团股份有限公司提供。实验饲料分别中添加复方中草药制剂、中西药联用制剂,对照组饲料中不添加。将复方中草药制剂 3 种中草药,于 65  $^{\circ}$ C 烘箱中烘干 24 h,将超微粉用孔径 96  $\mu$ m 筛绢过滤。复方中草药按比例添加到斜带石斑鱼基础饲料中做成颗粒料,使其质量分数为 2.2%。做法为:将粉碎后饲料原料用孔径 180  $\mu$ m 筛绢过滤,将各饲料成分混匀用 SLX-80 型挤压机制作颗粒饵料,直径 1.0 mm,于 45  $^{\circ}$ C 下烘干,装袋且密封,在-18  $^{\circ}$ C 冰箱中保存。

**人工攻毒与中西药治疗石斑鱼溶藻弧菌病** 人工感染实验,实验开始前先进行攻毒预实验,通过对斜带石斑鱼胸腔注射溶藻弧菌,以 80% 鱼发生病症但没有鱼死亡为实验菌液浓度。从福建省漳浦市某养殖场购买斜带石斑鱼,鱼体体长(11  $\pm$  2) cm,在 1 t 循环水养殖系统中暂养,暂养 1 周,鱼体稳定用于实验。把体质量相当的健康斜带石斑鱼随机分成实验组和对照组,每组各 20 尾,分别在 18 $^{\circ}$ C 的循环水养殖系统内适应性饲养 1 周。用  $10^3$  cfu/g 的溶藻弧菌菌悬液对受试鱼进行攻毒。对照组斜带石斑鱼则用 PBS 缓冲液注射。然后分别把多组鱼转入饲养水体中进行喂养。实验设对照组 I (喂饲料,健康鱼)、对照组 II (喂饲料,病鱼组)。

**中药复方实验:** 实验组 I (喂饲料加诃子:白芍:甘草为 0.9:1.3:0.9)、实验组 II (喂饲料加诃子:白芍:甘草为 1.2:0.9:1.0)、实验组 III (喂饲料诃子:白芍:甘草为 1.0:1.0:1.0),实验组均为溶藻弧菌攻毒鱼。

**中西药联用复方实验:** 实验组 IV (喂饲料加诃子:白芍:甘草:恩诺沙星为 0.9:1.3:0.9:1.3),实验组 V (喂饲料加诃子:白芍:甘草:恩诺沙星为 1.2:0.9:1.0:0.9),实验组 VI (喂饲料加诃子:白芍:甘草:恩诺沙星为 1.0:1.0:1.0:1.0)。另与生产中常用药物进行治疗效果对比,设对照组 III (喂饲料加 2.2% 板黄散,购自无锡中水渔药有限公司)、对照组 IV (喂饲料加质量分数为 2.2% 大黄五倍子散,购自厦门市海约生物有限公司),每个实验组和对照组均设置 3 个重复组。实验开始后,每日于 8:00、17:00 投喂 2 次,投饲量为鱼体质量的 2%~3%,并根据生长、摄食情况作调整。待鱼饱食后吸出残饵。日换水 1 次,换水量为总体积的 1/3。实验饲料分别中添加复方中草药制剂、中西药联用制剂,对照组饲料中不添加。

每天保持观察并记录存活情况(观察 40 d),记录发病症状及死亡情况,解剖检查死亡鱼,计算累积死亡率(cumulative mortality rate, RCM, %).

$$RCM = [(N_0 - N_t) / N_0] \times 100\%$$

式中,  $N_0$  为实验初鱼数,  $N_t$  为实验结束鱼数,进行相关指标检测。每一组鱼如仍有存活则继续以



上方式投喂至鱼全部死亡。测死亡率（初始鱼成活率、半数鱼死亡时间、全部鱼死亡时间）。

### 1.3 数据分析

采用 SPSS 13.0 统计软件对数据进行统计与分析，先对实验数据进行单因素方差分析(ANOVA)，数据以平均值±标准差(mean±SD)表示，并进行 Duncan 氏多重比较法分析平均数的差异显著性( $P < 0.05$ )。

## 2 结果

### 2.1 复方三联中药体外抑菌比较

复方中药配方二治疗鱼病的药效比配方三、配方一的药效强。复方中药配方二诃子、白芍、甘草比例为 1.2 : 0.9 : 1.0，复方中药配方三诃子、白芍、甘草比例为 1 : 1 : 1。复方中药配方一诃子、白芍、甘草比例为 0.9 : 1.3 : 0.9，抑菌直径为极敏感。从减少药物用量且能达到较强抑菌效果方面评估，诃子、白芍、甘草比例为 1 : 1 : 1，药物水溶液的浓度 200 mg/mL，是最佳治疗石斑鱼溶藻弧菌病配方（表 1）。

表1 复方中药配方1~3制备的组合物不同浓度溶液的抑菌情况  
Tab.1 *In vitro* bacteriostatic effect of different concentrations of traditional Chinese medicines I, II, III on *V. alginolyticus*

中药配方 Chinese herbal medicine	药物水溶液的浓度/(mg/mL) the concentration of Chinese medicines in water	抑菌圈直径/mm bacteriostatic circle(value)	相对敏感度 relative sensitivity
复方中药配方一 Chinese medicines I	200	27.570±1.012	+++
	220	29.481±1.312	+++
	240	30.664±1.812	+++
复方中药配方二 Chinese medicines II	200	32.370±1.512	+++
	220	34.711±1.517	+++
	240	36.688±2.712	+++
复方中药配方三 Chinese medicines III	200	30.670±1.362	+++
	220	32.281±1.812	+++
	240	33.584±2.012	+++
对照组（无菌水） control group	0	0	-

注：结果判定标准：抑菌直径≥20 mm 为极敏感“+++”，15 mm≤抑菌直径<20 mm 为高敏“++”，10 mm≤抑菌直径<15 mm 为中敏“+”，抑菌直径<10 mm 低敏或无效“-”。

Notes: sensibility of bacteriostatic activity according to the diameter of inhibition. Diameter of inhibition is superior or equal to 20 mm, the sensibility is extremesensitivity(+++). Diameter of inhibition is from 15 mm to 20 mm, the sensibility is high sensitivity(++). Diameter of inhibition is from 10mm to 15mm, the sensibility is shight sensitivi (+). Diameter of inhibition is from inferior in 10mm, the sensibility is insensitivity (-)

### 2.2 药饵组和对照组鱼的成活率

对照组和人工感染斜带石斑鱼后，实验组各组的死亡情况如表 2 所示。饲料中分别添加质量分数为 2.2% 复方中药或中西药联用药物。攻毒实验结果在攻毒实验 6 d 后，各组斜带石斑鱼陆续出现发病、死亡现象。患病鱼有腹水，腹腔内有淡黄色的液体，腹部膨大，脾脏出血、坏死。肝肿大出血点或呈苍白色，肠壁充血，肠内食物少。少数鱼死亡但未出现这些症状。攻毒后 40 d 内各组鱼的死亡数趋于稳定，对攻毒后 40 d 各组的死亡率进行比较，统计各组鱼全部死亡的时间。各组 40 d 病鱼死亡数量比较：对照组 II > 对照组 IV > 对照组 III > 实验组 III > 实验组 II > 实验组 I > 实验组 V > 实验组 VI > 实验组 IV > 对照组 I。实验结束时对照组 I（投饲料、健康鱼）均健康存活，成活率为 100%，活动和摄食正常，无病症。对照组 II 在菌悬液注射后 6 d，死亡 1 尾，7~25 d 为死亡高峰期，死亡 20 尾。

中药复方投喂组：实验组 I、II、III 在菌悬液注射后 8~12 d 有 1 尾鱼死亡，26~32 d 为死亡高峰

期。44~51 d 死亡率为 100%。3 组鱼 40 d 的死亡率分别为 30.00%、32.00%、35.00%。病鱼死亡数量为实验组 I > 实验组 III > 实验组 II，实验组 II 喂饲料加诃子:白芍:甘草为 0.9 : 1.3 : 0.9 的中药复方治疗溶藻弧菌病效果最好。而生产常用药治疗组对照组 III、对照组 IV 40d 死亡率为 85.00%、95%，死亡率高于本组配方用药。

中西药联用投喂组：实验组 IV、VI、V 40d 鱼死亡率为 15.00%、28.00%、25.00%，实验组 IV 鱼死亡率最低，说明其药物治疗鱼病效果最好，配方为诃子、白芍、甘草、恩诺沙星比例为 0.9 : 1.3 : 0.9 : 1.3。而生产常用药治疗组对照组 III、对照组 IV 40 d 鱼死亡率为 85.00%、95.00%，死亡率高于本组配方用药。

饲料中添加中西药联用的药物的斜带石斑鱼抵抗力明显高于对照组。投喂的饲料添加诃子、白芍、甘草中药复方能较好治疗斜带石斑鱼溶藻弧菌病。治疗效果优于生产常用药板黄散、大黄五倍子散。而诃子、白芍、甘草和恩诺沙星组成的中西药联用治病效果比中药复方更强。

表2 投喂复方中药与中西药75天后药饵组和对照组鱼的成活率比较

Tab.2 Comparison of survival of poison bait group and non-poison bait group after 75 days' feeding with compound Chinese medicine and western medicine

处理组 treatment group	第 1 尾死亡时间/d time of the first death	50%死亡时间/d median lethal time	100%死亡时间/d time of 100% death	40 d 累计死亡率/% cumulative mortality rate
对照组 I control I	0	0	0	0
阳性对照组 II positivie group II	5.67±0.58	6.33±0.58	24.00±0.00	98.33±1.53
实验组 I test fish group I	7.33±0.58	25.00±1.00	42.67±1.15	29.00±1.00
实验组 II test fish group II	12.00±0.00	31.00±1.00	50.00±1.00	31.33±1.15
实验组 III test fish group III	8.67±1.15	29.00±1.00	47.33±0.58	32.33±2.52
实验组 IV test fish group IV	14.33±1.15	58.33±1.53	74.00±1.00	15.33±0.58
实验组 V test fish group V	12.67±0.58	53.67±1.53	63.67±1.53	27.00±1.00
实验组 VI test fish group VI	9.67±1.53	49.00±1.00	60.00±0.00	24.00±1.00
对照组 III control III	5.33±1.53	7.00±0.00	40.67±1.15	85.00±0.00
对照组 IV control IV	6.00±1.00	8.33±0.58	40.33±0.58	94.67±0.58

注：对照组 I（喂饲料健康鱼）、对照组 II（喂饲料，病鱼），实验组均为溶藻弧菌攻毒鱼。实验中药复方实验：实验组 I（喂饲料加诃子、白芍、甘草为 0.9 : 1.3 : 0.9）、实验组 II（喂饲料加诃子、白芍、甘草为 1.2 : 0.9 : 1.0）、实验组 III（喂饲料加诃子、白芍、甘草为 1.0 : 1.0 : 1.0）。实验组 IV（喂饲料加诃子、白芍、甘草、恩诺沙星为 0.9 : 1.3 : 0.9 : 1.3）、实验组 V（喂饲料加黄连:诃子、白芍、甘草、恩诺沙星为 1.2 : 0.9 : 1.0 : 0.9）、实验组 VI（喂饲料加诃子、白芍、甘草、恩诺沙星为 1 : 1 : 1 : 1），对照组 III（喂饲料添加质量分数为 2.2%板黄散）、对照组 IV（喂饲料添加质量分数为 2.2%大黄五倍子散）

Notes: the different lowercase letters represent the significant difference ( $P < 0.05$ ). Control I (basal feed healthy fish). The test fish groups containing the drugs feed additives at 2.2% respectively, were fed to *E. coli* infected. Positive group II (basal feed diseased fish), test fish group I (the ratio of *T. chebula*, *Ra. Paeoniae Albae* and *Licorice* of Chinese medicines formulas I is 0.9 : 1.3 : 0.9), test fish group II (the ratio of *T. chebula*, *R.x Paeoniae Albae* and *Licorice* of Chinese medicines formulas II is 1.2 : 0.9 : 1.0), test fish group III (the ratio of *T. chebula*, *R. Paeoniae Albae* and *Licorice* of Chinese medicines formulas III is 1 : 1 : 1), test fish group IV (the ratio of *T. chebula*, *Radix Paeoniae Albae* and *Licorice* of Chinese and western medicines formulas IV is 0.9 : 1.3 : 0.9 : 1.3), test fish group V (the ratio of *T. chebula*, *R. Paeoniae Albae* and *Licorice* of Chinese and western medicines formulas V is 1.2 : 0.9 : 1.0 : 0.9), test fish group VI (the ratio of *T. chebula*, *R. Paeoniae Albae* and *Licorice* of Chinese and western medicines formulas VI is 1 : 1 : 1 : 1), control III (compound BanHuang San), control IV (compound Rhubarb and *G. chinensis*)

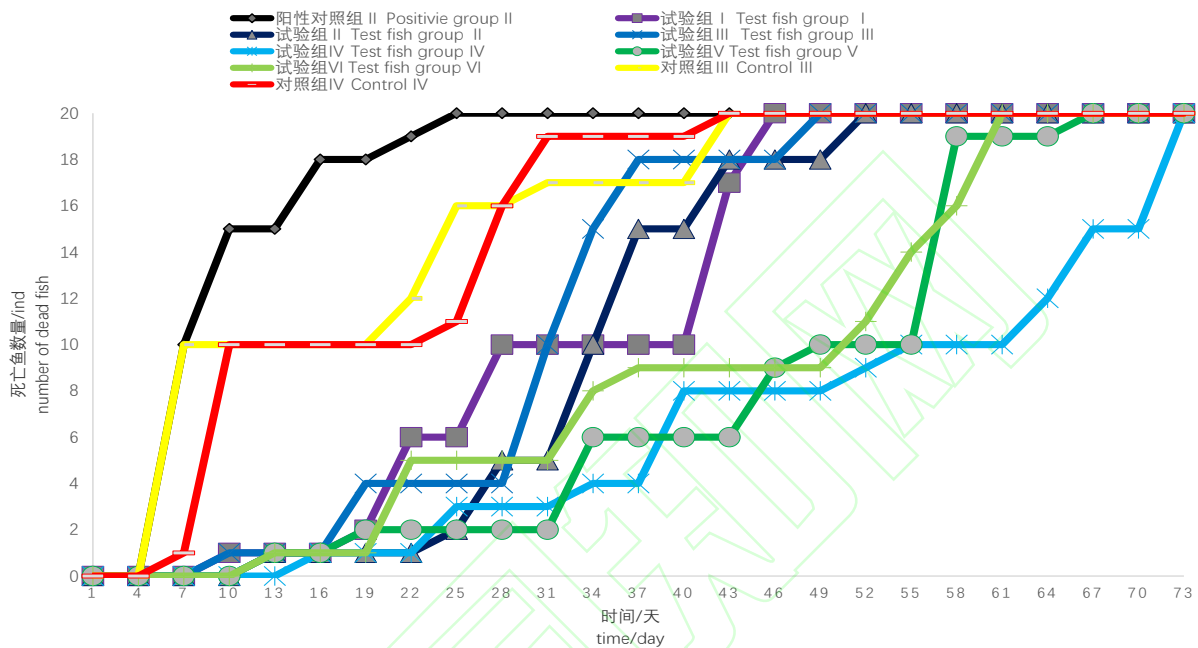


图1 投喂复方中草药药饵不同时间段实验组与对照组鱼死亡情况  
各列不同小写字母表示存在显著差异( $P < 0.05$ )

Fig. 1 Mortality of fish fed with Chinese herbal formula bait for different time in experimental and control groups

The different lowercase letters represent the significant difference ( $P < 0.05$ )

### 3 讨论

多年以来在海南等地的养殖石斑鱼陆续暴发较严重疾病, 导致巨大经济损失, 细菌性疾病限制了石斑鱼可持续发展<sup>[17]</sup>。国内外学者与养殖业者已将中药作为抗菌药物用于鱼类细菌疾病治疗, 中药无毒副作用, 抑菌杀菌效果明显<sup>[18]</sup>, 鱼体无药物残留, 达到水产健康养殖要求, 抗生素治疗易产生病原菌抗性。复方中药或中西药联用治疗鱼病已成为当前热点。中药复方的体外抑菌作用测定结果对病害治疗用药剂量有参考作用, 本研究首先进行体外细菌抑制实验, 诃子、白芍、甘草比例为 1 : 1 : 1, 药物水溶液的浓度 200 mg/mL, 是最佳配方, 杀灭溶藻弧菌效果最好。但体外抗菌实验主要是所试中药灭细菌的直接效果, 而患细菌疾病鱼治疗效果的评估, 还应进行养殖现场病鱼体内实验才能得以证实。以下结果与本研究结果相似, 复方中草药添加剂对大口鲶 (*Silurus meridionalis*)、牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)、高体革鲷 (*Scortum barcoo*)、草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 均具有抗病促生长效果<sup>[20-22]</sup>。复方中草药具有降低尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 死亡率, 促进生长和提高免疫力等作用<sup>[18-19]</sup>。中草药能治疗凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 哈维氏弧菌 (*Vibrio harveyi*) 病<sup>[23-24]</sup>。复方中药(葛根、黄连、金银花、板蓝根、黄芪、甘草、柴胡、当归、山楂、陈皮和茯苓)能提高凡纳滨对虾抗 WSSV 的性能, 饲料中添加 0.8% 和 1.2% 药物的疗效最好<sup>[13]</sup>。麻黄等 6 味中草药可增强鲫 (*Carassius auratus*) 免疫力<sup>[25]</sup>, 复方中药治疗黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 小肠结

肠炎耶尔森氏菌(*Yersinia enterocolitica*)病疗效好<sup>[26]</sup>。中草药复方制剂有协同作用,能较好地治疗鱼虾等的病害。以上学者研究与本研究结果相似,喂饲料加诃子:白芍:甘草为 0.9:1.3:0.9 的中药复方治疗溶藻弧菌病效果最好。投喂的饲料添加诃子、白芍、甘草中药复方能较好治疗斜带石斑鱼溶藻弧菌病。治疗效果优于生产常用药板黄散、大黄五倍子散。

恩诺沙星是畜禽和水产动物病害防治中常用抗菌药物,对多种细菌性疾病有较好疗效。恩诺沙星属喹诺酮类药物,广谱、低毒,对水产革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌有良好灭菌作用,广泛用于福建等多个省份养殖场病害防治,疗效显著。在本研究中对溶藻弧菌极度敏感。以下学者的研究结果与本研究的相似。恩诺沙星联合用药后其在福瑞鲤体肌肉、肝脏、肾中的抗生素浓度呈现升高再降低的特点<sup>[27]</sup>。不同水温(16 °C、25 °C)、不同给药剂量(10 mg/kg、20 mg/kg)和不同给药方式(肌注、口灌)等条件下,恩诺沙星的活性代谢产物环丙沙星在蟹血淋巴中均能检出,但含量均处于较低值<sup>[28]</sup>。但在养殖生产中,抗生素的长期滥用易导致主要病原菌出性耐药性。中药与抗生素类联用有一定的协同增效的治疗作用,可弥补中草药和抗菌素单味用药的不足<sup>[27]</sup>。不少学者研究结果与本研究的相似,五倍子与恩诺沙星联用对巴氏杆菌(*Pasteurella multocida*)(病有防治效果,西药主治祛除病邪、消除病因,中药主要提高机体的抗病能力<sup>[19]</sup>。由黄连、黄柏等中药和盐酸环丙沙星组成的中西药复方,对肉鸽巴氏杆菌(*Pasteurella*)病的治愈率达到 96.6%。中西药联用可提高疗效<sup>[29]</sup>。以上学者研究结果与本研究结果相似,中西药联用投喂组配方为诃子、白芍、甘草、恩诺沙星比例为 0.9:1.3:0.9:1.3 治疗鱼病效果好,饲料中添加中西药联用药物斜带石斑鱼抵抗力明显高于对照组。而诃子、白芍、甘草和恩诺沙星组成的中西药联用治病效果比中药复方更强。复方中药与中西药联用防治细菌性疾病有较大的应用优势,开展其对鱼病抗细菌性治疗具有重要的意义。

#### 参考文献:

- [1] 李振通, 田永胜, 唐江, 等. 云龙石斑与云纹石斑鱼、珍珠龙胆石斑鱼的生长性状及对比分析[J]. 水产学报, 2018, 42(11): 1-12.  
Li Z T, Tian Y S, Tang J, et al. The growth characteristics and comparative analysis of Yunlong grouper with *Epinephelus moara* and Zhenzhulongdan grouper[J]. Journal of Fisheries of China, 2018, 42(11): 1-12 (in Chinese).
- [2] 张燕飞, 庞欢瑛, 简纪常, 等. 溶藻弧菌双组分调控系统 KdpDE 减毒活疫苗的构建及其免疫效果评价[J]. 水产学报, 2015, 39(10): 1558-1568.  
Zhang Y F, Pang H Y, Jian J C, et al. Construction of an attenuated two-component regulatory system KdpDE strain of *Vibrio alginolyticus* and evaluation of its immunogenic and protective effects as a vaccine[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(10): 1558-1568 (in Chinese).
- [3] 余庆, 李菲, 王一兵, 等. 广西北部湾大宗海水养殖鱼类卵形鲳鲹感染溶藻弧菌及其致病性研究[J]. 广西科学, 2018, 25(1): 68-73.  
Yu Q, Li F, Wang Y B, et al. Isolation, identification and pathogenicity of *Vibrio alginolyticus* from marine cultured *Trachinotus ovatus* in Beibu gulf, Guangxi[J]. Guangxi Sciences, 2018, 25(1): 68-73 (in Chinese).
- [4] 曹际, 马林, 张文畅, 等. 大黄鱼源溶藻弧菌的鉴定及其菌蛻制备[J]. 微生物学通报, 2018, 45(1): 129-137.  
Cao J, Ma L, Zhang W C, et al. Identification of *Vibrio alginolyticus* isolated from large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) and generation of *V. alginolyticus* ghosts[J]. Microbiology China, 2018, 45(1): 129-137 (in Chinese).
- [5] 黄郁葱, 蔡双虎, 蔡佳, 等. 红笛鲷 *IRAK-1* 基因克隆及哈维弧菌感染后的组织表达[J]. 广东海洋大学学报, 2017, 37(3): 29-37.  
Huang Y C, Cai S H, Cai J, et al. Cloning and tissue expression of *IRAK-1* Gene from *Lutjanus sanguineus* in response to *Vibrio harveyi* infection[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2017, 37(3): 29-37 (in Chinese).
- [6] 徐先栋, 谢珍玉, 王世锋, 等. 致病溶藻弧菌脂多糖对点带石斑鱼毒性和免疫原性的影响[J]. 海洋科学, 2010, 34(3): 47-51.  
Xu X D, Xie Z Y, Wang S F, et al. Toxicity and immunogenicity of LPS from pathogenic *Vibrio alginolyticus* to grouper, *Epinephelus malabaricus*[J]. Marine Sciences, 2010, 34(3): 47-51 (in Chinese).
- [7] Su B C, Lin W C, Chen J Y. Recombinant *Epinephelus lanceolatus* serum amyloid A as a feed additive: Effects on immune gene expression and resistance to *Vibrio alginolyticus* infection in *Epinephelus lanceolatus*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 76: 233-239.
- [8] Pang H Y, Qiu M S, Zhao J M, et al. Construction of a *Vibrio alginolyticus* *hopPmaJ* (*hop*) mutant and evaluation of its potential as a live attenuated vaccine in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 76: 93-100.
- [9] 林桂芳, 陈文博, 苏永全, 等.  $\gamma$ -干扰素对溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)在青石斑鱼(*Epinephelus awoara*)巨噬细胞胞内存活的影响[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(5): 1241-1248.  
Lin G F, Chen W B, Su Y Q, et al. Effects of IFN-GAMMA on intracellular survival of *Vibrio alginolyticus* in macrophages of *Epinephelus awoara*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(5): 1241-1248 (in Chinese).
- [10] 胡梦华, 马立才, 赵妹, 等. 一株致病性溶藻弧菌的多重耐药与毒力基因分子分析[J]. 海洋渔业, 2015, 37(6): 557-564.  
Hu M H, Ma L C, Zhao S, et al. Molecular analysis of multi-drug resistance and virulence genes in a pathogenic *Vibrio alginolyticus*[J]. Marine Fisheries, 2015, 37(6): 557-564 (in Chinese).



- [11] 周维, 汤菊芬, 甘桢, 等. 溶藻弧菌耐药基因 *qnr* 的克隆及生物信息学分析[J]. 生物技术, 2015, 25(5): 414-419.  
Zhou W, Tang J F, Gan Z, et al. Cloning and bioinformatics analysis of quinolone resistance gene from *Vibrio alginolyticus*[J]. Biotechnology, 2015, 25(5): 414-419 (in Chinese).
- [12] 李睿, 翟华强, 田伟兰, 等. 中药煮散的历史源流及其与现代配方颗粒的对比性分析[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(5): 965-969.  
Li R, Zhai H Q, Tian W L, et al. Comparative analysis between origin of cooked traditional Chinese medicine powder and modern formula granules[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2016, 41(5): 965-969 (in Chinese).
- [13] 陈辉辉, 涂晨凌, 唐杨, 等. 复方中草药对凡纳滨对虾生长、消化酶和免疫因子活性及抗 WSSV 的影响[J]. 水产学报, 2017, 41(11): 1766-1778.  
Chen H H, Tu C L, Tang Y, et al. Effects of compound Chinese herbs on growth, digestive enzyme, immunologic factors and WSSV-resistant capacity of *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(11): 1766-1778 (in Chinese).
- [14] 黄永春, 陈辉辉, 涂晨凌, 等. 5 种中草药对凡纳滨对虾生长和抗病力的影响[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(1): 86-90.  
Huang Y C, Chen H H, Tu C L, et al. Effects of five species of Chinese herbs on the growth and disease-resistance of *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Anhui Agriculture Science, 2016, 44(1): 86-90 (in Chinese).
- [15] 李忠琴, 关瑞章, 汪黎虹, 等. 中药对鳗鲡病原菌的体外抑制作用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2011, 37(3): 306-311.  
Li Z Q, Guan R Z, Wang L H, Liu H W, et al. Antibacterial activity of Chinese herbs against pathogenic bacteria from eels *in vitro*[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2011, 37(3): 306-311 (in Chinese).
- [16] 朱苏琴, 纪荣兴, 苏永全, 等. 河流弧菌 (*Vibrio fluvialis*) 对大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 鳃粘液粘附特性研究[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(2): 389-393.  
Zhu S Q, Ji R X, Su Y Q, et al. Study on adhesion characteristics of *Vibrio fluvialis* to the gill mucus of *Pseudosciaena crocea*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2012, 43(2): 389-393 (in Chinese).
- [17] 孙晓飞, 郭伟良, 谢珍玉, 等. 棕点石斑鱼中草药免疫增强剂的快速筛选[J]. 渔业科学进展, 2015, 36(1): 54-60.  
Sun X F, Guo W L, Xie Z Y, et al. Rapid screening of Chinese herbal immunostimulants for *Epinephelus fuscoguttatus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2015, 36(1): 54-60 (in Chinese).
- [18] 巩华, 刘春花, 赵长臣, 等. 中草药预混料对罗非鱼生长性能和免疫抗病力的影响[J]. 中国渔业质量与标准, 2017, 7(2): 43-49.  
Gong H, Liu C H, Zhao C C, et al. Effects of herbal premix on the growth performance and immune function of tilapia (*Oreochromis spp.*)[J]. China Fishery Quality and Standards, 2017, 7(2): 43-49 (in Chinese).
- [19] 马驿, 陈均玉, 陈钦旭, 等. 中西药联合对人工诱发鸡霍乱的防治效果[J]. 中国兽医杂志, 2012, (7): 69-71.  
Ma Y, Chen J Y, Chen Q Y, et al. Chinese and western medicine combined control effect of artificial induced chicken cholera[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2012 (7): 69-71 (in Chinese).
- [20] 李霞, 马驰原, 李雅娟, 等. 中草药对牙鲆免疫力的影响[J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(3): 60-67.  
Li X, Ma C Y, Li Y J, et al. Effect of Chinese herbal medicine on immunity of flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2011, 42(3): 60-67 (in Chinese).
- [21] 梁拥军, 孙向军, 孙砚胜, 等. 复方中草药对宝石鲈抗氧化能力及免疫功能的影响[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(15): 7026-7029.  
Liang Y J, Sun X J, Sun Y S, et al. Effect of the compound Chinese herbal medicine on the antioxidant capacity and immune function of perch[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(15): 7026-7029 (in Chinese).
- [22] 李超, 张其中, 杨莹莹, 等. 不同剂量复方中草药免疫增强剂对草鱼生长性能和免疫功能的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(4): 534-540.  
Li C, Zhang Q Z, Yang Y Y, et al. Effect of different doses of compound Chinese herbal immunostimulant in feed on the growth and immune function of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2011, 20(4): 534-540 (in Chinese).
- [23] 董晓慧, 李明, 叶继丹. 复方中草药对凡纳滨对虾生长性能和血清非特异免疫因子的影响[J]. 大连水产学院学报, 2009, 24(2): 162-165.  
Dong X H, Li M, Ye J D. Effect of Chinese herbal medicines on growth and non-specific immunity in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2009, 24(2): 162-165 (in Chinese).
- [24] 汤菊芬, 黄瑜, 蔡佳, 等. 中草药复合益生菌制剂对凡纳滨对虾生长、抗病力及水质的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2015, 35(6): 47-52.  
Tang J F, Huang Y, Cai J, et al. Effects of a probiotics combined with Chinese herbal medicine on growth performance, water quality and resistance to diseases for *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2015, 35(6): 47-52 (in Chinese).
- [25] 盛竹梅, 马志宏, 黄文, 等. 复方中草药对鲫鱼免疫力的影响[J]. 四川农业大学学报, 2012, 30(4): 463-467.  
Sheng Z M, Ma Z H, Huang W, et al. Effect of Chinese herbal compounds on immunity of Crucian[J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 2012, 30(4): 463-467 (in Chinese).
- [26] 苟小兰, 王利. 复方中药对黄颡鱼小肠结肠炎耶尔森氏菌病的防治[J]. 科学养鱼, 2013, 29(8): 59-60.  
Gou X L, Wang L. Disease prevention of compound Chinese herbal medicine on *Pelteobagrus fulvidraco* infection with *Yersinia enterocolitica*[J]. Scientific Fish Farming, 2013, 29(8): 59-60.
- [27] 李改娟, 刘艳辉, 戴欣, 等. 不同水温联合用药中恩诺沙星在鲤体内的药代动力学及残留的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2017, 39(4): 471-476.  
Li G J, Liu Y H, Dai X, et al. Effects of combined drug administration at different water temperature on pharmacokinetics and residues of enrofloxacin in carp[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2017, 39(4): 471-476 (in Chinese).
- [28] 郑宗林, 叶金明, 李代金, 等. 恩诺沙星及其代谢产物在中华绒螯蟹血淋巴中的比较药代动力学[J]. 海洋渔业, 2011, 33(1): 74-82.  
Zheng Z L, Ye J M, Li D J, et al. On comparative pharmacokinetic of enrofloxacin in hemolymph of Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis*[J]. Marine Fisheries, 2011, 33(1): 74-82 (in Chinese).

- [29] 舒刚, 唐力, 赵小玲, 等. 陈白散对肉鸡生长性能与胴体性能的影响[J]. 中国兽医杂志, 2012, (7): 71-73.  
Shu G, Tang L, Zhao X L, *et al.* Effects of Chen Baisan on growth performance and carcass performance of broilers Chinese[J]. Journal of Veterinary Medicine, 2012, (7): 71-73 (in Chinese).

