

徐晓津, 李秀华, 马一帆, 等. 中草药复方及其与抗生素联用对斜带石斑鱼河流弧菌病的治疗效果[J]. 广东海洋大学学报, 2019, 39(5): 38-43.

## 中草药复方及其与抗生素联用对斜带石斑鱼 河流弧菌病的治疗效果

徐晓津<sup>1,2,3</sup>, 李秀华<sup>4</sup>, 马一帆<sup>5</sup>, 李慧耀<sup>1,2</sup>,  
祁欣<sup>1,2</sup>, 吕海龙<sup>3</sup>, 鄢庆枇<sup>1,2</sup>

(1. 福建福鼎海鸥水产食品有限公司, 大黄鱼育种国家重点实验室, 福建 宁德 352103; 2. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021;  
3. 福建天马科技股份有限公司, 福建福州 350308; 4. 厦门医学院附属第二医院中医科, 福建 厦门 361021;  
5. 厦门大学海洋与地球学院, 福建 厦门 3610051)

**摘要:**【目的】通过药物体外抑菌试验及斜带石斑鱼抗病力研究, 筛选有效治疗斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*) 河流弧菌(*Vibrio fluvialis*) 病复方中药与中西药联用配方。【方法】用黄连、乌梅、黄柏比例分别为 0.9 : 1.3 : 0.9、1.2 : 0.9 : 1.0、1 : 1 : 1 的复方中药对河流弧菌进行体外抑菌实验; 将质量分数 2.2% 复方中草药与中西药联用复方分别添加到基础饲料中, 投喂感染河流弧菌的斜带石斑鱼 73 d, 研究中西药对石斑鱼河流弧菌病治疗效果。其中, 试验组 I、II、III 的黄连、乌梅、黄柏比例分别为 0.9 : 1.3 : 0.9、1.2 : 0.9 : 1.0、1 : 1 : 1, 试验组 IV、V、VI 的黄连、乌梅、黄柏、恩诺沙星配比为 0.9 : 1.3 : 0.9 : 1.3、1.2 : 0.9 : 1.0 : 0.9、1 : 1 : 1 : 1, 另设空白对照组 I (健康鱼, 投喂基础饲料)、II (病鱼, 投喂基础饲料) 和阳性对照组 III (病鱼, 投喂板黄散)、IV (病鱼, 投喂大黄五倍子散)。【结果】黄连、乌梅、黄柏配 1 : 1 : 1、质量浓度 200 mg/mL 的复方中药对河流弧菌的体外抑菌效果较佳, 为最佳配方及用量。40 d 病鱼死亡数, 对照组 II > 对照组 IV > 对照组 III > 试验组 I > 试验组 III > 试验组 II > 试验组 V > 试验组 VI > 试验组 IV > 对照组 I, 试验组 II 的黄连、乌梅、黄柏比 1.2 : 0.9 : 1.0 为疗效最佳的中药复方, 试验组 IV 的黄连、乌梅、黄柏、恩诺沙星比为 0.9 : 1.3 : 0.9 : 1.3 为疗效最佳的中西药联用复方。【结论】中药复方及中西药联用复方均可较好治疗斜带石斑鱼河流弧菌病, 后者药效优于前者。

**关键词:** 复方中药; 中西药联用; 恩诺沙星; 斜带石斑鱼; 河流弧菌

中图分类号: S943.334.42

文献标志码: A

文章编号: 1673-9159(2019)05-0038-06

doi: 10.3969/j.issn.1673-9159.2019.05.006

### Effect of Chinese Medicines Formula and Antibiotics Preventing *Vibrio fluvialis* Diseases of *Epinephelus coioides*

XU Xiao-jin<sup>1,2,3</sup>, LI Xiu-hua<sup>4</sup>, MA Yi-fang<sup>5</sup>, LI Hui-yao<sup>1,2</sup>, QI Xin<sup>1,2</sup>, LYU Hai-long<sup>3</sup>, YAN Qing-pi<sup>1,2,3</sup>

(1. State Key Laboratory of Large Yellow Croaker Breeding, Fujian Fuding Seagull Fishing Food Co. Ltd., Ningde, 352103, China; 2. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China; 3. Fujian Tianma Science and Technology Group Co. Ltd., Fuzhou 350308, China; 4. Department of Traditional Chinese Medicine, Second Affiliated Hospital of Xiamen Medical College, Xiamen 361021, China; 5. College of Marine and Earth, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

收稿日期: 2018-12-05

基金项目: 2018 年开放课题基金项目 (LYC2018RS04, 闽海鸥[2018]31 号); 福建省自然科学基金项目 (2018J01455、2016N5009); 国家自然科学基金 (31702384); 福建省科技重大专项 (2016NZ0001-3); 2017 年集美大学研究生教育教学改革研究项目 (集大研[2017]18 号); 教育部鳗鱼工程研究中心开放基金项目 (RE201704)

第一作者: 徐晓津 (1969—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为水产微生物学。E-mail: xiaojinxu@jmu.edu.cn

通信作者: 鄢庆枇 (1971—), 男, 教授, 研究方向为水产微生物学。E-mail: yanqp@jmu.edu.cn

**Abstract:** 【 Objective 】 To study the effects of antibacterial effect of the drugs against *Vibrio fluvialis* in vitro and the drugs on the resistance to diseases of *Epinephelus coioides*. To screen traditional Chinese medicines formula and Chinese and western medicines formula in preventing *V. fluvialis* diseases of *E. coioides*. 【 Method 】 Bacteriostatic test on traditional Chinese medicines formula against *Vibrio fluvialis* in vitro was used. The ratios of *Huanglian*, *Prunus mume* and *Cortex Phellodendri* of Chinese medicines formulas I, II, III are 0.9 : 1.3 : 0.9, 1.2 : 0.9 : 1.0, 1 : 1 : 1, respectively. To test the drugs in preventing the diseases, *E. coioides* was injected with either PBS as control or *V. fluvialis* for treatment. The fishes were divided into 10 groups for 73 days: control group I (healthy fish), control group II (diseased fish), drug production in aquaculture control group III (Banhuang San supplemental group, diseased fishes) and control group IV (Dahuang Wubeizi San supplemental group, diseased fishes). The ratios of *Huanglian*, *Prunus mume* and *Cortex Phellodendri* were different in Chinese medicines formulas trial group I, II, III. The ratio of *Huanglian*, *Prunus mume*, *Cortex Phellodendri* and enrofloxaci were different in Chinese and western medicines formulas trial group IV, V, VI. The groups with 3 replicates per treatment of feed containing the drugs feed additives at 2.2% respectively, were fed to *Epinephelus coioides*. 【 Result 】 The concentrations of Chinese medicines formulas III (200mg/ml) is 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 I > trial group III > trial group II > trial group V > trial group VI > trial group IV > control group I. The ratios of *Huanglian*, *Prunus mume* and *Cortex Phellodendri* of Chinese medicines formula II is 1.2 : 0.9 : 1.0. The ratio of *Huanglian*, *Prunus mume*, *Cortex Phellodendri* and enrofloxaci in Chinese and western medicines formula IV are 0.9 : 1.3 : 0.9 : 1.3. These are the best formulas. 【 Conclusion 】 The Chinese and western medicines formula is better than the Chinese medicines formula. By adding the formulas, the capacity of disease resistance can be improved.

**Key words:** Chinese medicines formula; enrofloxaci; *Epinephelus coioides*; *Vibrio fluvialis*

石斑鱼肉质鲜美, 营养价值和经济价值高, 主要有棕点石斑鱼 (*Epinephelus fuscoguttatus*)、鞍带石斑鱼 (*E. lanceolatus*)、斜带石斑鱼 (*E. coioides*)、豹纹鳃棘鲈 (*Plectropomus leopardus*)、驼背鲈 (*Cromileptes altivelis*) 等, 福建、海南等地已有规模化养殖。随着养殖规模不断扩大, 水体环境逐步恶化, 常因细菌感染而引发败血症、烂尾、烂鳃等疾病。河流弧菌 (*Vibrio fluvialis*) 是养殖石斑鱼的主要病原之一<sup>[1-4]</sup>。抗生素在治疗细菌性疾病时有易产生耐药性、导致药物残留等缺点<sup>[5]</sup>, 且石斑鱼自身抵抗力日益降低, 病害问题日趋严重, 给石斑鱼养殖业带来严重损失<sup>[6]</sup>。中药可增强水产生物免疫力, 复方中药有良好抑菌作用<sup>[7-9]</sup>, 研究与开发中草药防治鱼病有重要意义。

研究表明, 采用现代化制药技术制作的中药颗粒剂对细菌性疾病有良好疗效, 已有 200 多种中药被用于鱼类饲料添加剂<sup>[10-11]</sup>。中草药对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)、尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)、欧鳗 (*Anguilla anguilla*) 等疾病有良好疗效<sup>[12-13]</sup>。已有中药提取物对褐点石斑鱼 (*E. fuscoguttatus*) 的免疫研究报道<sup>[6]</sup>, 但鲜见石斑鱼病

害的中草药防治、配方筛选等研究, 以及中草药对河流弧菌体外抑菌、中西药联用治疗鱼病的系统研究。本课题组前期中药与西药对河流弧菌体外抑菌研究中表明, 240 mg/mL 的黄连、乌梅、黄柏组成三联复方中药对河流弧菌的抑菌圈为 (22.012 ± 1.346) mm, 抑菌作用极敏感; 恩诺沙星对河流弧菌抑菌圈直径为 (33.039 ± 1.476) mm, 药物敏感性结果为高度敏感。本研究将该中药复方与中西药联用复方药物拌入饲料, 饲喂人工攻毒的河流弧菌病石斑鱼, 进行药物防治鱼病效果比较研究, 以筛选药效强的复方中药、复方中西药配方, 以及有效使用剂量, 为鱼类细菌性疾病防治、中草药合理利用以及石斑鱼的健康养殖提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 不同配方复方中药对河流弧菌体外抑制效果

**1.1.1 供试菌种** 河流弧菌分离自患病石斑鱼, 河流弧菌菌液由集美大学水产学院海洋渔用疫苗工程技术研究中心保存<sup>[3]</sup>。将保存的河流弧菌分别用 LB 液体培养基 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

浓度光密度值为 0.5 (含菌量约  $10^8$  cfu/mL), 置于 4 °C 冰箱保存备用。

**1.1.2 复方三联中药配方** 采用筛选的中药黄柏、黄连、乌梅 (江阴天江药业有限公司), 黄连、乌梅、黄柏比例分别为 0.9 : 1.3 : 0.9 (配方 1)、1.2 : 0.9 : 1.0 (配方 2)、1 : 1 : 1 (配方 3)。将中药配方颗粒溶解于无菌蒸馏水中, 于沸水浴加热 30 min, 使中药充分溶解。实验用中药颗粒剂溶液分别相当于生药的质量浓度为 200、220、240 mg/mL。

**1.1.3 复方三联中药对河流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, 将河流弧菌稀释至  $10^8$  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 3 种不同药液各 200  $\mu$ L, 于 28 °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 则低敏或无效 “-”。

## 1.2 不同配方复方中药与中西药联用复方对石斑鱼河流弧菌病防治比较

**1.2.1 药材** 黄连、乌梅、黄柏 (厦门连福堂药店), 用中药粉碎机 (FW177 天津市泰斯特仪器有限公司) 制成约 150  $\mu$ m 的颗粒, 再用超微粉碎机 (三清振动微粉机, SQW-60 山东三清不锈钢设备有限公司) 再次粉碎至粒径 5 ~ 10  $\mu$ m 的超微粉。黄连、乌梅、黄柏三联中药配伍组成中药复方, 黄连、乌梅、黄柏、恩诺沙星 (兴化市恒威生物技术有限公司) 组成中西药联用复方。复方中草药制剂: 3 种中草药超微粉等质量均匀混合, 在 65 °C 下烘干约 24 h, 用孔径 96  $\mu$ m 筛绢过滤。按一定比例添加到斜带石斑鱼基础饲料 (福建天马饲料有限公司) 中, 使其质量分数为 2.2%。将粉碎后的饲料原料用孔径 180  $\mu$ m 筛绢过滤后, 混匀, 用 SLX-80 型挤压机制成直径 1.0 mm 颗粒饵料, 于 45 °C 烘干, 装袋密

封, 置 -18 °C 冰箱中保存。

**1.2.2 攻毒试验** 试验前先进行攻毒预试验, 通过对斜带石斑鱼注射河流弧菌, 以 80% 鱼出现病症, 但无鱼死亡的河流弧菌浓度为本试验用菌浓度。斜带石斑鱼购自福建省漳浦市某养殖场, 体长 (11  $\pm$  2) cm, 暂养于 1 t 水体的循环水养殖系统。暂养 1 周后用于试验。将规格相当的健康斜带石斑鱼随机分成试验组和对照组, 每组各 20 尾, 分别在 18 °C 的循环水养殖系统内适应性饲养 1 周。用  $10^2$  cfu/g 的河流弧菌悬液通过胸腔注射方式对受试鱼进行攻毒。对照组斜带石斑鱼则注射磷酸盐缓冲液 (PBS)。将各组鱼分别转入相应水体中饲养。

**1.2.3 中药复方及中西药联用复方试验** 中药复方试验: 设对照组 I (健康鱼, 喂基础饲料)、对照组 II (病鱼, 喂基础饲料), 试验组 I、II、III 分别投喂黄连、乌梅、黄柏比例为 0.9 : 1.3 : 0.9、1.2 : 0.9 : 1.0、1 : 1 : 1 的饲料。

中西药联用复方试验: 试验组 IV 投喂黄连、乌梅、黄柏、恩诺沙星为 0.9 : 1.3 : 0.9 : 1.3 的饲料, 试验组 V 投喂黄连、乌梅、黄柏、恩诺沙星为 1.2 : 0.9 : 1.0 : 0.9 的饲料, 试验组 VI 投喂黄连、乌梅、黄柏、恩诺沙星为 1 : 1 : 1 : 1 的饲料。为与生产中常用药物进行治疗效果对比, 另设对照组 III (投喂添加质量分数 2.2% 板黄散的饲料)、对照组 IV (投喂添加质量分数 2.2% 大黄五倍子散的饲料)。

各试验组和对照组均设置 3 个重复组。试验开始后每日于 8:00、17:00 投喂 2 次, 投饲量为鱼体质量的 2% ~ 3%, 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。试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,  $R_{CM}$ )。

$$R_{CM} = [(N_0 - N_t) / N_0] \times 100\%$$

式中,  $R_{CM}$  为累积死亡率 (%),  $N_0$  为试验初始鱼数,  $N_t$  为试验结束鱼数。各组如仍有鱼存活则继续以上述方式投喂至鱼全部死亡。测第 1 尾鱼死亡时间、半数鱼死亡时间及鱼死亡率、全部鱼死亡时间及鱼死亡率、40 d 累计死亡率。

## 1.3 数据统计与分析

采用 SPSS 13.0 统计软件对数据进行统计与分析, 先对试验数据进行单因素方差分析 (ANOVA),



数据以平均值 ± 标准差表示，并进行 Duncan's 多重比较，分析各指标差异的显著性 ( $P < 0.05$ )。

## 2 结果

### 2.1 复方三联中药体外抑菌比较

表 1 可见，复方中药配方 2 比配方 3、配方 1 药效强。配方 2、3 抑菌为极敏感，配方 1 抑菌为高敏。3 种配方中药，随着药物水溶液的浓度增加，抑菌效果也增强。从用量少且达到较强抑菌效果等方面筛选，黄连、乌梅、黄柏比例为 1 : 1 : 1，药物水溶液的浓度 200 mg/mL，是最佳配方和使用剂量 (表 1)。

### 2.2 药饵组和对照组斜带石斑鱼的成活率

以河流弧菌人工感染斜带石斑鱼后，试验各组病鱼死亡情况见表 2。攻毒后 1、2 d 各试验组鱼摄食饲料减少。在攻毒 5 d 后，各组斜带石斑鱼陆续出现发病、死亡现象。病鱼腹腔内有淡黄色液体，腹部膨大，脾脏出血、肿大，肝肿大、呈苍白色，肠内食物减少，少数鱼死亡，体表无症状。由于攻毒后 40 d 内各组鱼的死亡数趋于稳定，比较分析攻毒后 40 d 各组的死亡率。同时还统计各组鱼全部死亡的时间。

40 d 时病鱼死亡数(图 1)比较：对照组 II > 对照组 IV > 对照组 III > 试验组 I > 试验组 III > 试验组 II > 试验组 V > 试验组 VI > 试验组 IV > 对照组 I。试验结束时，对照组 I (空白对照组) 均

健康存活，成活率为 100.00%，且活动和摄食均正常，无肉眼可见病症。对照组 II 在注射菌悬液后 6 d 时死亡 1 尾，6 ~ 10 d 为死亡高峰期，死亡 11 尾。40 d 时病鱼全部死亡。

表 1 不同浓度复方中药配方 1~3 组合物的抑菌情况  
Table 1 In vitro bacteriostatic effect of different concentration of traditional Chinese medicines I, II, III on *Vibrio fluvialis*

配方组别	药物质量浓度 Mass fraction of Chinese medicines / (mg/mL)	抑菌圈直径 Antibacterial circle diameter/ mm	相对敏感度 Relative sensitivity
配方 1	200	18.057 ± 1.009	++
Formula 1	220	18.818 ± 1.325	++
	240	19.012 ± 1.642	++
配方 2	200	23.714 ± 1.334	+++
Formula 2	220	24.816 ± 1.422	+++
	240	25.702 ± 1.564	+++
配方 3	200	20.471 ± 1.039	+++
Formula 3	220	21.618 ± 1.222	+++
	240	22.012 ± 1.446	+++
对照	0	0	-

说明：配方 1、2、3，黄连、乌梅、黄柏比例分别为 0.9 : 1.3 : 0.9、1.2 : 0.9 : 1.0、1 : 1 : 1；+++，极为敏感；++，高度敏感；+，中度敏感；-，低敏或无效。

Notes: The ratio of *Huanglian*, *Prunus mume* and *Cortex phellodendri* of Chinese medicines formulas I, II, III are 0.9 : 1.3 : 0.9, 1.2 : 0.9 : 1.0, 1 : 1 : 1, respectively; +++, extreme sensitivity; ++, high sensitivity; +, slight sensitivity; -, insensitivity.

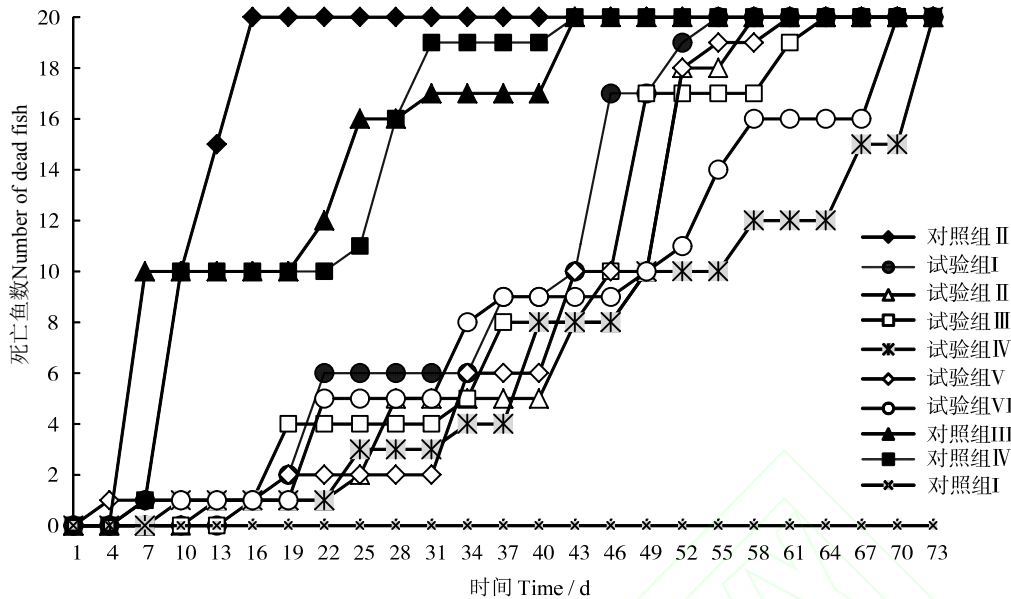
表 2 复方中药与中西药联用药组斜带石斑鱼成活率

Table 2 Survival of groupers fed with complex Chinese herb bait and enrofloxacin diets

处理组 Treatment group	第 1 尾死亡时间 Time of the first death/d	50%死亡时间 Median lethal time/d	100%死亡时间 Time of 100% death/d	40 d 累计死亡率 Cumulative mortality rate/%
对照组 I Control I	0	0	0	0.00%
阳性对照组 II Positive group II	5.00 ± 1.00	8.00 ± 1.00	14.67 ± 0.58	100.00 ± 0.00
试验组 I Test group I	12.67 ± 1.53	43.00 ± 0.00	54.33 ± 1.15	43.00 ± 0.00
试验组 II Test group II	13.00 ± 0.00	46.33 ± 1.15	63.67 ± 1.15	37.00 ± 0.00
试验组 III Test group III	15.00 ± 0.00	44.00 ± 1.73	61.33 ± 1.15	39.00 ± 0.00
试验组 IV Test group IV	8.67 ± 0.58	49.33 ± 1.15	70.67 ± 0.58	12.67 ± 0.58
试验组 V Test group V	4.33 ± 0.58	40.33 ± 1.53	59.00 ± 1.00	14.00 ± 0.00
试验组 VI Test group VI	6.33 ± 0.58	46.67 ± 1.15	68.67 ± 1.15	13.67 ± 0.58
对照组 III Control III	5.33 ± 0.58	6.67 ± 0.58	41.33 ± 1.53	84.67 ± 0.58
对照组 IV Control IV	6.33 ± 1.15	8.33 ± 0.58	41.00 ± 0.00	93.67 ± 1.15

注：对照组 I，健康鱼，投喂基础饲料；对照组 II，病鱼，投喂基础饲料；试验组 I、II、III，投喂添加黄连、乌梅、黄柏比例分别为 0.9 : 1.3 : 0.9、1.2 : 0.9 : 1.0、1 : 1 : 1 的饲料；试验组 IV、V、VI，投喂添加黄连、乌梅、黄柏、恩诺沙星比例分别为 0.9 : 1.3 : 0.9 : 1.3、1.2 : 0.9 : 1.0 : 0.9、1 : 1 : 1 : 1 的饲料；对照组 III，投喂添加质量分数 2.2% 板黄散的饲料；对照组 IV，投喂添加质量分数 2.2% 大黄五倍子散的饲料。

Notes: Control I, healthy fish fed on basal feed; Positive group II, diseased fish fed on basal feed; test fish group I, II, III, the ratio of *Huanglian*, *Prunus mume* and *Cortex phellodendri* in diets are 0.9 : 1.3 : 0.9, 1.2 : 0.9 : 1.0, 1 : 1 : 1, respectively; test fish group IV, V, VI, the ratio of *Huanglian*, *P. mume*, *C. phellodendri* and Enrofloxacin in diets are 0.9 : 1.3 : 0.9 : 1.3, 1.2 : 0.9 : 1.0 : 0.9, 1 : 1 : 1 : 1, respectively; control III, fed with compound BanHuang San; control IV, fed with compound Rhubarb and *G. chinensis*.



对照组 I, 健康鱼, 投喂基础饲料; 对照组 II, 病鱼, 投喂基础饲料; 试验组 I、II、III, 投喂添加黄连、乌梅、黄柏比例分别为 0.9 : 1.3 : 0.9、1.2 : 0.9 : 1.0、1 : 1 : 1 的饲料; 试验组 IV、V、VI, 投喂添加黄连、乌梅、黄柏、恩诺沙星比例分别为 0.9 : 1.3 : 0.9 : 1.3、1.2 : 0.9 : 1.0 : 0.9、1 : 1 : 1 : 1 的饲料; 对照组 III, 投喂添加质量分数 2.2% 板黄散的饲料; 对照组 IV, 投喂添加质量分数 2.2% 大黄五倍子散的饲料。

Control I, healthy fish fed on basal feed; Positive group II, diseased fish fed on basal feed; test fish group I, II, III, the ratio of *Huanglian*, *Prunus mume* and *Cortex phellodendri* in diets are 0.9 : 1.3 : 0.9, 1.2 : 0.9 : 1.0, 1 : 1 : 1, respectively; test fish group IV, V, VI, the ratio of *Huanglian*, *P. mume*, *C. phellodendri* and Enrofloxacin in diets are 0.9 : 1.3 : 0.9 : 1.3, 1.2 : 0.9 : 1.0 : 0.9, 1 : 1 : 1 : 1, respectively; control III, fed with compound BanHuang San; control IV, fed with compound Rhubarb and *G. chinensis*.

图 1 投喂复方中草药与中西药联用药饵不同时间段试验组与对照组鱼死亡情况

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

复方中药组, 试验组 I、II、III 注射菌悬液后 13 ~ 15 d 时石斑鱼死亡 1 尾, 43 ~ 47 d 为死亡高峰期 (图 1)。40 d 时鱼死亡率为 43.00%、38.00%、40.00%。投喂复方中药组的病鱼死亡数量为试验组 I > 试验组 III > 试验组 II (表 2), 投喂添加黄连、乌梅、黄柏比例 1.2 : 0.9 : 1.0 的复方中药治疗河流弧菌病的效果最佳。

中西药联用组, 试验组 V、VI、IV, 40 d 时石斑鱼死亡率为 14.00% ± 0.00%、13.67% ± 0.58%、12.67% ± 0.58%, 试验组 IV 治疗鱼病效果最佳, 该组黄连、乌梅、黄柏、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%, 死亡率高于中西药联用各配方用药组。

综上, 病鱼饲以添加黄连、乌梅、黄柏中药复方饲料, 可较好治疗斜带石斑鱼河流弧菌病, 治疗效果优于生产常用药板黄散、大黄五倍子散。而黄连、乌梅、黄柏和恩诺沙星组成的中西药复方治病效果较中药复方疗效更佳。可见, 斜带石斑鱼饲料中添加黄连、乌梅、黄柏中药复方或中西药联用药,

其抗病力明显提高。

### 3 讨论

河流弧菌可引起人、兽、水产动物疾病<sup>[14]</sup>, 是海水鱼类养殖中的重要病原菌, 可引起牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)、斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*)、大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 患病, 并造成严重经济损失<sup>[1-4, 15-18]</sup>。西药防治易产生病原菌抗性, 复方中药或中西药联用防治鱼病已成为当前研究热点。目前一些单方中药与复方中药的抑菌效果还未明了, 不同单方中药在鱼体内外抑菌效果不同, 因此, 获得疗效较佳的复方中药、中西药联用配方, 应通过病鱼治疗试验验证实际的应用效果<sup>[13, 19]</sup>。本研究通过河流弧菌体外抑制实验比较筛选出体外抑制河流弧菌效果较佳的三联中药复方再进行鱼病的治疗效果试验, 体外抑制实验表明, 黄连、乌梅、黄柏配比为 1 : 1 : 1, 药物水溶液质量浓度为 200 mg/mL 时抑菌效果最佳, 是最佳配方及用量。

张照红等<sup>[20]</sup>通过研究黄芪等 7 味中草药组成的

复方对奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂) 的影响, 发现饲料中添加质量分数 1.5% 复方中草药对提高鱼非特异性免疫力效果最显著。本研究中, 添加质量分数 2.2% 的复方中药亦可降低斜带石斑鱼的死亡率, 且对斜带石斑鱼河流弧菌病疗效优于板黄散、大黄五倍子散等生产常用药。可见本研究的中药复方均可提高病鱼的抗病力, 对鱼病疗效优于单一药方。可能的原因是, 中药复方对治疗鱼病有一定的协同增效作用。

本研究中, 中西药联用组治疗效果优于中药复方组。恩诺沙星是水产养殖中最常用药之一, 抗菌力极强, 对多种细菌性疾病疗效较佳。王静波等<sup>[21]</sup>研究表明, 以鱼体质量 30 mg/kg (正常量) 拌饵投喂对鱼体影响不大, 鲟鱼血清中 GPT、GOT、AKP、SOD 和溶菌酶指标与对照组无显著差异, 但十倍剂量会损害鱼类内脏, 且休药期较长。本研究恩诺沙星用量 (30 mg/kg) 在正常范围内, 对鱼体内脏损伤少, 且对鱼病的治疗效果显著。

本研究筛选出 2 个配方, 对斜带石斑鱼河流弧菌病疗效较佳, 罹患河流弧菌病的斜带石斑鱼在整个试验过程中存活率高。复方中药、中西药联用防治鱼病, 具有疗效好、药残少、前景广阔的优点。本研究结果可为复方中草药、中西药联用应用于石斑鱼的健康养殖提供科学依据。

### 参考文献

- [1] 鄢庆枇, 邹文政, 纪荣兴. 应用荧光抗体技术检测牙鲆体内的河流弧菌[J]. 海洋科学, 2006, 30(4): 16-19.
- [2] 王晓露, 邹文政, 鄢庆枇, 等. 病原性河流弧菌对青石斑鱼体表黏液黏附特性的研究[J]. 水产学报, 2008, 32(3): 441-447.
- [3] 朱苏琴, 纪荣兴, 苏永全, 等. 河流弧菌(*Vibrio fluvialis*) 对大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*) 鳃黏液黏附特性研究[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(2): 389-393.
- [4] 周妍妍, 闫东辉, 苏建荣. 临床分离河流弧菌毒力及药敏表型特征分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 15(5): 492-495.
- [5] 唐怀庆, 张健东, 陈刚, 等. 养殖密度、投喂频率和投喂水平对珍珠龙胆石斑鱼特定生长率、饲料转化率和胃蛋白酶活力的协同影响[J]. 广东海洋大学学报, 2018, 38(1): 22-31.
- [6] 李焯新, 蔡小辉, 黄瑜, 等. 中草药与抗生素联用对罗非鱼源无乳链球菌的体外抑菌作用[J]. 广东海洋大学学报, 2016, 36(4): 45-49.
- [7] 曾佳佳, 陈静, 李士栋, 等. 中草药-微生态制剂在养殖业中的应用研究进展[J]. 饲料与畜牧, 2018(8): 71-73.
- [8] 李忠琴, 关瑞章, 郭松林, 等. 中药双联用复方对养殖鳊鲃主要致病菌的抑制作用研究[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2011, 16(4): 241-245.
- [9] 李霞, 马驰原, 李雅娟, 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.
- [10] 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): 1766-1777.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 张彬, 黄婷, 陈明, 等. 致病性鮰爱德华氏菌药敏及中草药体外抑菌作用研究[J]. 水产科技情报, 2010, 37(6): 282-287.
- [14] 杨梦香, 柴方超, 周前进, 苗亮, 黄光亮, 陈炯. 应用 LAMP-LFD 技术可视化检测河流弧菌(*Vibrio fluvialis*) 的研究[J]. 海洋与湖沼, 2017, 48(2): 383-390.
- [15] 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.
- [16] CHEN Y Y, CHENG A C, CHENG S A. Orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* that have encountered low salinity stress have decreased cellular and humoral immune reactions and increased susceptibility to *Vibrio alginolyticus*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 80: 392-396.
- [17] HAI T N, THUY T T N, CHEN, Y C. Enhanced immune responses and effectiveness of refined outer membrane protein vaccines against *Vibrio harveyi* in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. Journal of Fish Diseases, 2018, 41: 1349-1358.
- [18] ZHU Z M, DONG C F, WENG S P. The high prevalence of pathogenic *Vibrio harveyi* with multiple antibiotic resistance in scale drop and muscle necrosis disease of the hybrid grouper, *Epinephelus fuscoguttatus* (f) × *E. lanceolatus* (o), in China[J]. Journal of Fish Diseases, 2018, 41: 589-601.
- [19] 苏振霞, 肖辉, 陈列欢, 等. 中药单味药及复方对嗜水气单胞菌的体外抑菌作用[J]. 中国兽医杂志, 2011, 479(11): 52-54.
- [20] 张照红, 林旋, 张伟妮, 等. 复方中草药对奥尼罗非鱼血液非特异性免疫功能的影响[J]. 水产科学, 2011, 30(1): 1-5.
- [21] 王静波, 徐立蒲, 王小亮, 等. 盐酸恩诺沙星对鲟鱼主要非特异免疫指标影响的研究[J]. 中国水产, 2018(2): 100-103.

(责任编辑: 刘庆颖)