

复方中药及其与抗生素联用对斜带石斑鱼 变形假单胞菌病的防治效果

徐晓津^{1,2}, 李秀华³, 马一帆⁴, 李慧耀^{1,2}, 祁欣^{1,2}, 吕海龙^{1,2}, 鄢庆枇^{1,2}

(1. 集美大学水产学院, 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)

摘要:通过药物体外抑菌效果及其对斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)抗病力影响的研究,筛选出有效治疗斜带石斑鱼变形假单胞菌(*Pseudomonas plecoglossicida*)病的复方中药与中西药联用配方。在不同复方中药实验组投喂饲料中添加不同比例黄连、黄芪与黄柏,设定三联复方中药实验组Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ(黄连、黄芪、黄柏质量比分别为0.9:1.3:0.9、1.2:0.9:1.0、1.0:1.0:1.0);复方中药与抗生素联用组中,将不同质量比的中药黄连、黄芪、黄柏与抗生素恩诺沙星添加入饲料,分别设定为中西药联用实验组Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ。各三联中药与中西药联用实验组均添加占饲料2.2%质量分数的药物。研究结果为:三联复方中药浓度为60 mg/mL,黄连、黄芪、黄柏质量比为1.2:0.9:1.0时,抑制变形假单胞菌的效果最好,为复方中药组中最佳配方。养殖实验进行至40 d时,鱼死亡率由高到低分别为:对照组Ⅱ>对照组Ⅳ>对照组Ⅲ>实验组Ⅰ>实验组Ⅲ>实验组Ⅱ>实验组Ⅴ>实验组Ⅵ>实验组Ⅳ>对照组Ⅰ。实验组Ⅱ(饲料中添加质量比为1.2:0.9:1.0的黄连:黄芪:黄柏)为药效最好的复方中药配方,实验组Ⅳ(黄连:黄芪:黄柏:恩诺沙星比为0.9:1.3:0.9:1.3)为治疗鱼病效果最好的中西药联用配方。中西药联用相比复方中药治疗斜带石斑鱼变形假单胞菌病效果好,对于患变形假单胞菌病的斜带石斑鱼有较好的疗效。

关键词:海洋生物学;复方中药;中西药联用;恩诺沙星;斜带石斑鱼;变形假单胞菌

DOI: 10.3969/J. ISSN. 2095-4972. 2020. 04. 014

中图分类号:P735

文献标识码:B

文章编号:2095-4972(2020)04-0574-07

斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)肉质鲜美,营养丰富,是我国海水鱼类养殖的重要经济鱼类。福建省石斑鱼产业链产值超50亿元,是福建省推进水产千亿产业链建设的11个品种之一,是海南、广东、福建等地重要的工厂化养殖鱼类^[1]。多年来,养殖户不断提高养殖密度,多地已多次爆发石斑鱼细菌性疾病,造成严重的经济损失。据不完全统计,2012年天津斜带石斑鱼溃烂病爆发,造成的经济损失约为500万元^[2]。研究表明用变形假单胞菌(*Pseudomonas gleoclossicida*)人工感染斜带石斑鱼,病鱼死亡率达100%,病鱼脾脏出现大量白点^[3-4]。抗生素已被较广泛地用于鱼类细菌病防治,但病原菌易产

生耐药性,且病鱼机体有抗生素等药物残留。而中药则含有多种免疫活性物质,并有抑菌及灭菌作用^[5-6],无药物残留问题。因此复方中药或中西药联用已被广泛用于鱼病治疗。研究发现在饲料中添加板蓝根、黄芪和茯苓等能治疗南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*)疾病^[7-9]。复方中药已被用于治疗刺参(*Apostichopus japonicus*)、金丝鱼(*Tanichthys albonubes*)、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)、日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)的疾病^[8, 10-14]。但尚未有学者进行复方中药治疗鱼类变形假单胞菌病的研究,也未有中药治疗石斑鱼变形假单胞菌病的报道。

收稿日期:2019-01-23

基金项目:福建省自然科学基金资助项目(2018J01455);大黄鱼育种国家重点实验室资助项目(LYC2018RS04,闽海鹂[2018]31号);2019年福建省科技特派员资助项目(闽科农[2019]11号);教育部鳗鱼工程研究中心开放基金资助项目(RE202014);福建省特种水产配合饲料重点实验室开放课题资助项目(TMKJZ1907)

作者简介:徐晓津(1969—),女,副教授;E-mail: xiaojinxu@jmu.edu.cn

本研究前期开展中药及抗生素抑制变形假单胞菌研究,筛选出抑菌作用极强的三联复方中药黄连、黄芪、黄柏,在 60 mg/mL 浓度下,其对变形假单胞菌的抑菌圈为 21.95 ± 1.48 mm,恩诺沙星的抑制细菌效果为敏感,抑菌圈直径为 22.55 ± 1.82 mm^[15]。本研究将筛选出的敏感药物黄连、黄芪、黄柏及恩诺沙星添加至饲料中,治疗石斑鱼变形假单胞菌病,比较不同质量比例的复方中药及中西药联用治疗斜带石斑鱼细菌性疾病的效果,为水产养殖病害防治提供参考。

1 材料及方法

1.1 菌种

本研究所用变形假单胞菌分离于患病石斑鱼,保存于集美大学水产学院病害实验室^[16]。采用 LB 液体培养基培养 8 ~ 12 h,调整细菌 OD_{600} 值为 0.5,保存于 -4 °C 冰箱。再用 LB 液体培养基培养细菌,采用麦氏计数法调整变形假单胞菌浓度至 1×10^7 cfu/mL。

1.2 筛选及制备复方三联中药

采用前期筛选的中药黄连、黄芪、黄柏制备不同的复方中药配方。复方中药配方 I、II、III 组中黄连、黄芪、黄柏的质量比分别为:0.9:1.3:0.9、1.2:0.9:1.0、1.0:1.0:1.0。中药颗粒由江阴天江药业有限公司生产,通过炮制中药药材、浓缩药液并制备颗粒,制备成与生药药性相同且可溶于水的颗粒剂。用无菌蒸馏水溶解中药颗粒,隔水加热 30 min 至中药颗粒溶解,制备相当于生药材质量浓度为 60、70、80 mg/mL 的药液^[17]。

1.3 复方三联中药抑菌活性测定

用改良牛津杯法进行复方中药抑制变形假单胞菌实验^[17],用移液枪吸取 0.1 mL 浓度为 1×10^8 cfu/mL 的菌悬液,滴在固体培养基上,涂匀。在 1 个孔中加入 200 μ L 的无菌水作为对照,在另 3 个孔中分别加入 200 μ L 含 60、70、80 mg/mL 生药不同复方三联中药液,于 28 °C 下培养 18 ~ 24 h,用 Supercell 抑菌圈测量仪测量各组的抑菌圈大小^[17]。中药抑菌能力的判定标准为:抑菌直径 ≥ 20 mm 为极敏感“+++”, $15 \text{ mm} \leq$ 抑菌直径 < 20 mm 为高敏“++”, $10 \text{ mm} \leq$ 抑菌直径 < 15 mm 及抑菌直径 < 10 mm 分别为中敏、低敏或称为无效“-”^[17]。

1.4 三联中药及中西药拌饵投喂治疗鱼变形假单胞菌病研究

黄连、黄芪与黄柏购于厦门莲福堂药店,采

用购自天津市泰斯特仪器有限公司的中药粉碎机(FW177),将各药材粉碎为约 150 μ m 大小,将粉末用山东三清不锈钢设备有限公司生产的超微粉碎机(三清振动微粉机,SQW-60)再次粉碎至约 5 ~ 10 μ m 大小的超微药粉^[17]。抗生素恩诺沙星购于兴化市恒威生物技术有限公司。石斑鱼饲料由福建天马科技股份集团有限公司提供。在饲料中添加黄连、黄芪与黄柏复方中药或复方中药与恩诺沙星联用做为实验组,以基础饲料投喂组为对照。烘干黄连、黄芪与黄柏中药超微药粉,按等质量混匀,用 160 目筛绢过滤,三联中药质量分数为基础饲料的 2.2%。用 SLX-80 型饲料挤压机,制作成 1.0 mm 的颗粒饲料,烘干(60 °C,12 h)、装袋并密封备用^[17]。

通过预实验,采用攻毒后 80% 斜带石斑鱼有变形假单胞菌病的症状,且无病鱼死亡的攻毒细菌浓度(1×10^2 cfu/g)为本研究的攻毒细菌浓度。斜带石斑鱼体长为 (12 ± 2) cm,体重为 (21 ± 3) g,购于福建省宁德市养殖场。设实验组和对照组,每组各 20 尾鱼,于 18 °C 的 1 t 循环水养殖系统内暂养斜带石斑鱼 1 周。采过胸腔注射的方式对受试鱼进行攻毒,变形假单胞菌的浓度为 1×10^2 cfu/g。对照组鱼注射 PBS 缓冲液。阴性对照组 I 为健康鱼且仅投喂饲料、阳性对照组 II 为感染细菌的病鱼组且仅投喂饲料。

以下各组均进行变形假单胞菌攻毒斜带石斑鱼实验。其中三联复方中药实验组 I、II、III 投喂的饲料中添加黄连:黄芪:黄柏的质量比为 0.9:1.3:0.9、1.2:0.9:1.0、1.0:1.0:1.0。实验组 IV、V、VI 为中西药联用复方组,在投喂的饲料中添加三联复方中药及恩诺沙星,黄连:黄芪:黄柏:恩诺沙星的质量比例为 0.9:1.3:0.9:1.3、1.2:0.9:1.0:0.9、1.0:1.0:1.0:1.0。同时进行三联复方中药与生产常用药物板黄散及大黄五倍子散的药效对比研究,添加的板黄散及大黄五倍子散占饲料质量比为 2.2%,添加板黄散的为对照组 III;添加大黄五倍子散的为对照组 IV,均进行 3 次重复。每天于 8:00、17:00 投喂 2 次,按斜带石斑鱼鱼体质量的 2% ~ 3% 作为投饲量,每日吸出残余饵料并换水。

每天检查患病石斑鱼症状与死亡率,统计病鱼累积死亡率(Rate of Cumulative Mortality, RCM)。

$$RCM(\%) = [(N_0 - N_t)/N_0] \times 100 \quad (1)$$

式(1)中:RCM 是累积死亡率(%), N_0 指开始实验石斑鱼的总数, N_t 为结束实验时石斑鱼的总数。

各实验组鱼死亡率为 100% 时结束实验,统计各组石斑鱼死亡率。

1.5 数据统计

用 SPSS 24.0 软件进行数据的统计,包括单因素方差 (ANOVA) 分析,通过 Duncan’s 多重比较法进行各数据的差异显著性 ($p < 0.05$) 分析,数据以平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{X} \pm SD$) 表示。

表 1 复方中药配方 I、II、III 制备的不同浓度中草药溶液的抑菌情况

Tab.1 Bacteriostatic effect of different concentrations of Chinese herbal formulas I, II and III on *Pseudomonas plecoglossicida* in vitro

实验组	药物水溶液的浓度 /(mg · mL ⁻¹)	抑菌圈直径/mm	相对敏感度
复方中药配方 I 组	60	20 $\pm$ 1	+ + +
	70	20 $\pm$ 1	+ + +
	80	20 $\pm$ 1	+ + +
复方中药配方 II 组	60	23 $\pm$ 1	+ + +
	70	25 $\pm$ 1	+ + +
	80	26 $\pm$ 1	+ + +
复方中药配方 III 组	60	20 $\pm$ 1	+ + +
	70	21 $\pm$ 1	+ + +
	80	22 $\pm$ 1	+ + +
对照组 (无菌水)	0	0	-

注:结果判定标准:抑菌直径 ≥ 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 及抑菌直径 < 10 mm 分别为中敏、低敏或称为无效“-”。

2.2 复方中药和中西药联用治疗斜带石斑鱼变形假单胞菌病的效果分析

注射变形假单胞菌 2 d 后,各实验组、对照组Ⅳ及对照组Ⅲ鱼饲料残留增加,斜带石斑鱼减少摄食饲料。5 d 后,各组感染细菌的斜带石斑鱼有死亡现象,病鱼腹部膨大,脾脏出血、有白点,解剖发现病鱼肠内食物少,少量无症状且死亡。各组鱼的死亡情况见表 2。

各组鱼感染变形假单胞菌 40 d 后,病鱼的死亡数有明显差别(图 1),不同实验组与对照组斜带石斑鱼的死亡率由高到低为:对照组Ⅱ $>$ 对照组Ⅳ $>$ 对照组Ⅲ $>$ 实验组Ⅰ $>$ 实验组Ⅲ $>$ 实验组Ⅱ $>$ 实验组Ⅴ $>$ 实验组Ⅵ $>$ 实验组Ⅳ $>$ 对照组Ⅰ。

对照组Ⅰ的健康鱼未出现死亡或病症,摄食正常。对照组Ⅱ攻毒 3 d 后开始出现 1 尾鱼死亡,病鱼死亡高峰期在第 17 天,死亡率为 100%。

复方中药投喂组:感染变形假单胞菌 8 ~ 10 d 后,实验组Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ均出现 2 尾鱼死亡,病鱼死亡数

2 结果与讨论

2.1 复方三联中药体外抑制变形假单胞菌的比较

由表 1 可知,复方中药配方 I、II、III 组随着药物浓度的增大,药物抑制细菌的效果也增强。药物浓度为 60 mg/mL,黄连、黄芪、黄柏质量比为 1.2:0.9:1.0 的复方中药配方Ⅱ为最佳配方(表 1),是具有用药少且抑制细菌效果强的药物配方。

量多出现在 43 ~ 45 d,至 58 ~ 73 d 病鱼死亡率为 100%。攻毒 40 d 后,实验组Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ的病鱼死亡率分别为(38.7 $\pm$ 1.2)%、(31.7 $\pm$ 0.6)%、(34.3 $\pm$ 0.6)%。实验组Ⅱ在对病鱼所投喂的饲料中添加质量比例为1.2:0.9:1.0的黄连:黄芪:黄柏,其治疗鱼病效果最好。

中西药联用投喂组:感染变形假单胞菌 15 ~ 21 d 后,实验组Ⅴ、Ⅵ、Ⅳ中组均有 1 尾鱼死亡,在 45 ~ 55 d 病鱼死亡数量大。在攻毒 60 ~ 73 d 后,各组病鱼死亡率为 100%。中西药联用实验组Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ,40 d 鱼死亡率为(16.7 $\pm$ 1.5)%、(21.0 $\pm$ 1.0)%、(19.3 $\pm$ 1.2)%。实验组Ⅳ在对病鱼投喂的饲料中添加质量比例为 0.9:1.3:0.9:1.3 的黄连:黄芪:黄柏:恩诺沙星,治疗斜带石斑鱼变形假单胞菌病效果最好。对照组Ⅲ与对照组Ⅳ中的板黄散与大黄五倍子散为养殖场常用药物,攻毒 40 d 后,对照组Ⅲ、Ⅳ病鱼的死亡率为(83.3 $\pm$ 1.5)%、(93.7 $\pm$ 1.5)% ,板黄散与大黄五倍子散治疗组的病鱼死亡率高于复

方中药与中西药联用投喂组。结果表明各配方药物中西药联用配方比复方中药组药物疗效好。均比生产常用药物板黄散、大黄五倍子散的疗效强,

表 2 投喂复方中药与中西药联用效果比较
Tab.2 Comparison of survivals among groups fed with Chinese herbal formula along and Chinese and Western medicine combination formula

处理组	第 1 尾鱼死亡时间/d	50% 鱼死亡时间/d	100% 鱼死亡时间/d	40 d 累计死亡率/%
对照组 I	0	0	0	0
阳性对照组 II	2.6 ± 0.6	15.0 ± 0.0	16.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0
实验组 I	7.0 ± 1.0	42.0 ± 1.0	51.7 ± 1.5	38.7 ± 1.2
实验组 II	12.3 ± 0.6	47.3 ± 1.2	56.0 ± 2.0	31.7 ± 0.6
实验组 III	9.0 ± 1.0	44.0 ± 1.0	53.7 ± 1.5	34.3 ± 0.6
实验组 IV	20.0 ± 1.0	54.0 ± 1.0	71.7 ± 1.5	16.7 ± 1.5
实验组 V	15.0 ± 0.0	46.7 ± 1.5	64.3 ± 1.2	21.0 ± 1.0
实验组 VI	17.0 ± 1.7	44.7 ± 0.6	58.3 ± 1.5	19.3 ± 1.2
对照组 III	5.3 ± 0.6	7.3 ± 0.6	46.0 ± 1.0	83.3 ± 1.5
对照组 IV	6.3 ± 1.2	8.3 ± 0.6	40.7 ± 0.6	93.7 ± 1.5

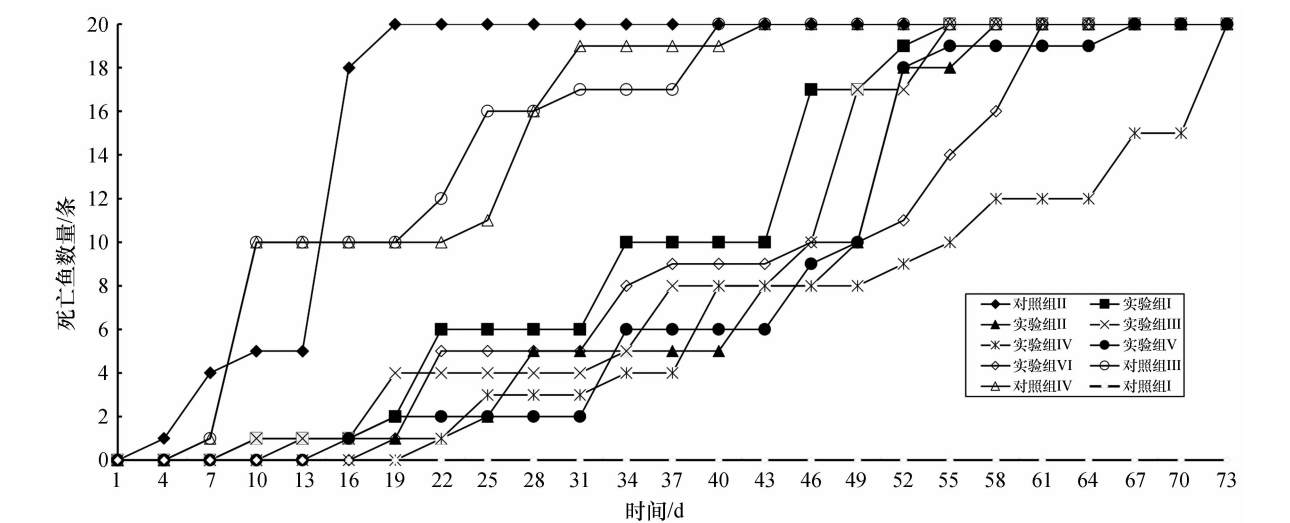


图 1 投喂复方中药药饵后不同时间段实验组与对照组鱼死亡情况
Fig.1 Mortalities of fish fed with Chinese herbal formula bait in experimental and control groups with times

2.3 讨论

变形假单胞菌能引起石斑鱼内脏白点病^[18],造成严重的经济损失。在水产养殖中长期使用抗生素治疗鱼病,病原菌易产生耐药性。而中药具有副作用小、无药物残留、价格低、疗效好等优点,同时能提高鱼类免疫力。中药能抑制或杀灭细菌,已被长期用于养殖场鱼病防治。研究表明枸杞(*Lycium barbarum*)、香菇多糖及黄芪对金丝鱼(*Tanichthys albonubes*)的用药安全浓度分别为 156. 81、278. 92、239. 49 mg/L,是安全、低毒性的饲料添加剂^[12],在

鱼病防治工作中已取得较好的疗效。尽管中药已被广泛地应用于水产养殖病害防治,并取得较好的疗效^[7],但不少中药抑制及杀灭细菌的机理未明了,不同中药对细菌的抑制作用也不同,不同中药对不同鱼类细菌性疾病的治疗效果不同。因此,通过不同药物进行鱼类病害治疗的实验加以比较、验证,才能筛选出有效的复方中药及中西药联用药物。本研究通过采用不同质量比的黄连、黄芪、黄柏进行抑菌实验,通过不同质量比的复方中药、中西药联用药物进行斜带石斑变形假单胞菌病的治疗效果比较研

究,筛选治疗鱼病效果好的复方。黄连、黄芪、黄柏、恩诺沙星组成的中西药联用药物比中草药复方疗效强;不同质量比的复方中药及中西药联用药物对斜带石斑变形假单胞菌病的疗效均强于生产常用药板黄散、大黄五倍子散。这与其他学者的研究结果相似^[19]。

不少学者采用中药进行鱼病防治,结果显示复方中药疗效好,可提高草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)免疫力、抗病力^[19]。复方中药已被用于治疗日本鳎鲷、锯缘青蟹(*Scylla serrata*)疾病^[20-21]。金银花、山楂、黄芪和党参可增强刺参抗病力^[22-23]。葛根、黄连、金银花、板蓝根和黄芪等复方中药能降低凡纳滨对虾白斑综合征病毒(WSSV)病的死亡率^[24]。茵陈三黄汤为主的药物能减少鲢鳙鱼(*Oncorhynchus mykiss*)肝损伤,降低病鱼死亡率,有效防治细菌性疾病^[11]。具有协同作用的复方中药(黄芪、板蓝根、金银花和生石膏)与黄芪对鱼的免疫保护率分别为79.19%、46.00%^[19],说明复方中药的药效高于单方中药。多联中药已被用于治疗草鱼细菌性疾病,研究表明投喂周期为14~21 d能增加病鱼免疫力、抗病力^[19]。

抗生素恩诺沙星对鱼类细菌性疾病的治疗效果好,在饲料中添加恩诺沙星,其在大福瑞鲤(*Cyprinus carpio*)肌肉、肝胰脏、肾脏中的浓度均先升后降^[25]。但如果使用抗生素,在16、25℃等不同温度、10、20 mg/kg等不同给药剂量和肌注、口灌等不同给药方

式条件下,在锯缘青蟹血淋巴中均能检出恩诺沙星,含量较低^[26]。在集约化、规模化的水产养殖中,饲料中添加多联中药或中西药联用药物,能减少抗生素的使用,降低细菌耐药性,减少鱼体残留抗生素超标等问题,达到无公害水产养殖病害防治准则。

3 结论

本研究采用不同质量比例的黄连、黄芪、黄柏进行抑制变形假单胞菌实验,随着复方中药浓度的增加,药效也不断增强。药物浓度为60 mg/mL,黄连、黄芪、黄柏质量比为1.2:0.9:1.0为最佳抑菌配方,药物用量少且抑菌效果较强。

同时设置由不同质量比例的黄连、黄芪、黄柏组成的复方中药组,及不同质量比例的三种中药与恩诺沙星组成的中西药联用药物组,展开治疗斜带石斑鱼变形假单胞菌病的研究。结果表明复方中药组中实验组Ⅱ(在饲料中添加的黄连、黄芪、黄柏质量比例为1.2:0.9:1.0)对斜带石斑变形假单胞菌病的治疗效果最好。中西药联用组中实验组Ⅳ的药效最好,其黄连、黄芪、黄柏与恩诺沙星质量比例为0.9:1.3:0.9:1.3。本研究各配方药物能较好地治疗石斑鱼变形假单胞菌病,采用的不同比例的黄连、黄芪、黄柏组成的药物配方均比生产常用药物板黄散、大黄五倍子散治疗鱼病的效果好。且中西药联用配方较复方中药组药物的治疗效果更佳。

参考文献:

- [1] 张雅芝,刘冬娥,方琼珊,等. 温度和盐度对斜带石斑鱼幼鱼生长与存活的影响[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2009, 14(1): 8-13.
- [2] 王雪惠,耿绪云,李翔,等. 点带石斑鱼溃烂病原菌的分离与鉴定[J]. 天津农学院学报, 2012(3): 19-25.
- [3] 张贝贝. RK21_RS10315 毒力基因在变形假单胞菌感染斜带石斑鱼过程中的功能[D]. 厦门: 集美大学, 2019.
- [4] 霍建强,赵玲敏,覃映雪,等. 变形假单胞菌灭活疫苗研究[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2017, 22(4): 12-19.
- [5] 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.
- [6] 卢绪峰. 中草药饲料添加剂的应用[J]. 江西饲料, 2008(1): 14-18.
- [7] 李明,董晓慧. 复合中草药制剂对凡纳滨对虾生长和免疫指标的影响[J]. 淡水渔业, 2008, 38(6): 68-72.
- [8] 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.
- [9] 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]. 大连海洋大学学报, 2009, 24(2): 162-165.
- [10] 王东梅,王维新. 复方中草药对刺参免疫的影响[J]. 饲料研究, 2012(11): 63-65.
- [11] 曲亚玲,袁莉刚,钱续,等. 中草药复合添加剂对虹鳟鱼增重及肝功能和结构的影响[J]. 中国兽医科学, 2012, 42(8): 865-869.
- [12] 吴旋,于刚,白东清,等. 4种中草药添加剂对金丝鱼急性毒性响应的研究[J]. 南方水产科学, 2010, 6(2): 73-76.
- [13] 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.

- [14] 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.
- [15] 徐晓津,李秀华,马一帆,等. 50 味中药与 8 种抗生素对变形假单胞菌的体外抑菌作用[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2019, 24(6): 409-418.
- [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.
- [17] 徐晓津,李秀华,马一帆,等. 复方中草药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]. 水产学报, 2019, 43(5): 1 338-1 346.
- [18] 胡娇,张飞,徐晓津,等. 大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)内脏白点病病原分离鉴定及致病性研究[J]. 海洋与湖沼, 2014, 45(2): 409-417.
- [19] 李超,张其中,朱成科,等. 增强草鱼免疫功能的复方中草药免疫增强剂筛选[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2012, 37(4): 121-129.
- [20] 韩金钢,关瑞章,黄文树,等. 日本鳗鲡肝肾病原菌及其防治中药的研究[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2011, 16(5): 327-334.
- [21] 谢丽玲,成凯,朱炎坤,等. 黄芪等复方中药对锯缘青蟹免疫力的影响[J]. 渔业科学进展, 2012, 33(6): 93-98.
- [22] 沈朕,王晓兰,韩雅萌,等. 3 种复方中药饲料添加剂对刺参生长及免疫力的影响[J]. 贵州农业科学, 2016, 44(4): 103-105.
- [23] 王东梅,王维新. 饲料中添加复方中草药对刺参免疫的影响[J]. 饲料研究, 2012(10): 16-18.
- [24] 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): 1 766-1 778.
- [25] 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.
- [26] 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.

Effects of Chinese herbal formula along and its combination with antibiotics on the prevention of *Pseudomonas plecoglossicida* diseases in *Epinephelus coioides*

XU Xiao-jin^{1,2}, LI Xiu-hua³, MA Yi-fan⁴, LI Hui-yao^{1,2}, QI Xin^{1,2}, LÜ Hai-long^{1,2}, YAN Qing-pi^{1,2}
(1. Fisheries College, Jimei University, 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; 4. College of Marine and Earth, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The antibacterial effects of drugs on *Pseudomonas plecoglossicida* *in vitro* and effects of the drugs on disease resistance of orange spotted grouper, *Epinephelus coioides*, were studied in order to screen traditional Chinese herbal formula and Chinese and Western medicine combination formula for effective treatment of *Pseudomonas plecoglossicida* diseases of the grouper. Based on the bacteriostatic test of traditional Chinese medicine formula against *P. plecoglossicida* *in vitro*, the ratios of *Astragalus radix*, *Coptis chinensis* and *Cortes phellodendri* of Chinese herbal formulas I, II and III are set as 0.9:1.3:0.9, 1.2:0.9:1.0 and 1.0:1.0:1.0, respectively. The ratios of *Astragalus radix*, *Coptis chinensis*, *Cortes phellodendri* and enrofloxaci were different in Chinese and Western medicine combination formulas IV, V and VI, which were added to feed as trial groups. The groups with 3 replicates per treatment of food containing the drug additives at mass fraction of 2.2% were fed to the grouper. The results showed that the Chinese herbal formula III in aqueous solution of 60 mg/mL was the best formula. The mortality in 40 days in the treatments was found in order of 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. It

showed that the Chinese herbal formula II and the combination formula IV were the best formulas for fish disease treatment. Moreover, the combination formula is better than the Chinese herbal formula. Thus, the screened formulas can have better effects on the *Pseudomonas plecoglossicida* diseases of the grouper.

Key words: marine biology; Chinese herbal formula; enrofloxaci; *Epinephelus coioides*; *Pseudomonas plecoglossicida*

DOI: 10.3969/J. ISSN.2095-4972.2020.04.014

(责任编辑:肖 静)