

中草药在水产动物免疫上的应用

周 疆, 郑凯妮, 朱 斐

(浙江农林大学 动物科技学院, 浙江 杭州 311300)

摘要: 随着养殖规模的扩大和养殖环境的恶化, 水产养殖业越来越受困于病害的频繁发生, 尤其是细菌性和病毒性疾病给鱼、虾等水产动物的养殖业造成了巨大的经济损失。传统的化学类和抗生素类药物毒性较大, 容易使病原微生物产生耐药性, 且严重污染水环境。中草药具有其安全、低毒、环保等特点, 越来越为水产养殖界所关注, 相关的应用研究报道也日益增多。以近年来水产动物免疫研究中中草药的应用研究进展进行了综述, 大量研究报道显示中草药具有提高水产动物(鱼、虾、蟹等)免疫机能的作用, 并在抗病毒、抗菌和抗寄生虫等方面表现出有效的促进作用, 从而提高了水产养殖动物的成活率。目前的研究趋势是从过去的复方制剂研究更多地向一种中草药及其提取物的免疫促进作用研究过渡, 同时相关研究的深度不断加强, 有助于精准用药和降低成本, 拓宽了中草药在水产动物疾病预防上的应用前景, 从而促进水产养殖业采用更加绿色环保的疾病预防方法。参 59

关键词: 水产保护学; 中草药; 水产; 免疫; 综述

中图分类号: S943 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2019)02-0406-09

A review on application of Chinese herbal medicine additives in immunization of aquatic animals

ZHOU Jiang, ZHENG Kaini, ZHU Fei

(College of Animal Science and Technology, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

Abstract: Since the 1990s, with the expanding scale of aquaculture and the deteriorating aquatic environment, aquaculture has been increasingly affected by various diseases, especially viral and bacterial diseases have caused huge economic loss in fish and shrimp culture. Traditional chemical and antibiotic drugs are highly toxic, and are easy to cause drug-resistance of pathogenic microbes. With the increasing attention paid by the state and the society to the ecological environment and food safety, more drugs of these categories are prohibited by the Ministry of Agriculture. Characterized by being safe, low toxin, environment friendly, Chinese herb medicine is added into aquaculture feed to prevent and control disease of aquatic organisms. Chinese herb medicine and its applications in aquatic animal immunity were reviewed. A large body of literature reported that Chinese herbal medicine played an important role in enhancing the immune function of aquatic animals (fish, shrimp, crabs, and etc.), promoted the antiviral, antibacterial and anti-parasitic activity effectively, and increased the survival rate of aquatic animals. Current research focus tends to change from previous compound preparation to the immune role of a separate herb and its extract. And the depth of research has been strengthened, which contributes to precision medication and reducing cost, widening the prospect of the application of Chinese herbal medicine in the disease prevention of aquatic animals, and promoting the adoption of a greener and environmentally friendly disease prevention method in aquaculture. [Ch, 59 ref.]

Key words: aquatic protection; Chinese herb medicine; aquaculture; immunity; review

收稿日期: 2018-02-05; 修回日期: 2018-04-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31370050); 浙江农林大学大学生科研训练资助项目(118-2013200004)

作者简介: 周疆, 从事水产动物研究。E-mail: 1315114677@qq.com。朱斐, 副研究员, 博士, 从事水产动物病害研究。E-mail: zhufei@zju.edu.cn

中草药(Chinese herb medicine)包括中药和草药,是一个组合名词^[1],中药源于草药,草药是中药的补充。中医理论认为中草药是人类在自然界中发现并直接供药用的植物、动物、矿物以及基本不改变其理化属性的简单加工品。相比西药,中草药毒副作用小,不易产生抗药性,环保性好;其中某些药物成分不仅抗菌抗病毒,还具有免疫促进作用,能够显著地增强动物的抗病能力,改善动物的免疫机能^[2]。随着水产养殖环境的不断恶化以及各类病害的频繁发生,越来越多的环保监测不合格水产养殖企业面临停业整顿或关闭;农业部公布的禁用渔药品种逐年增多^[3],化学药物和抗生素的禁用范围也逐年扩大。水产动物病毒疫苗的匮乏和中草药在治疗病毒性、自身免疫性和营养代谢性疾病上的作用,促使绿色安全的中草药成为当前鱼药研究和开发的重点。中草药饲料添加剂的研究起步较晚,在水产动物病害日益增多、环境保护和食品安全压力不断加大的今天,中草药在水产养殖疾病防治方面所起的作用日益凸显;传统的复方中草药制剂成份复杂,成本较高,作用机制不够清楚,难以满足现代水产养殖业的需要,由此单一中草药及其提取物在水产动物免疫中的应用研究成为当前水产动物中草药免疫的主要方向。

1 中草药饲料添加剂

中草药中含有甙类、有机酸类、多糖类、生物碱、鞣质和黄酮类等有效成分,对水产动物机体的病原微生物活性、免疫功能、生产性能有促进作用。中草药饲料添加剂^[4]以中草药为饲料添加剂,副作用小,残留物少,不产生环境污染,没有抗药性,不激发药源性疾病;天然结构和生物活性较为完整,动物体更容易接受,因而促生长、调节新陈代谢、提高抗逆性和抗病性等作用较为明显。伴随着各项法律法规的出台,社会对食品安全的日益重视和越来越多的化学物质的禁用,使得具备绿色安全等特质的中草药逐渐替代化学合成药物和植物生长调节剂成为新兴的饲料添加剂。

2 中草药的抗病毒作用

2.1 中草药对病毒的直接抑制作用

中草药对病毒的直接抑制作用主要是通过其免疫活性物质抑制病毒感染增殖过程中的某一个环节实现。WANG 等^[5]通过细胞试验发现:从绿茶提取物中得到的表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)能阻断草鱼 *Ctenopharyngodon idellus* 呼肠孤病毒(respiratory enteric orphan virus)与细胞的层粘连蛋白受体结合,从而抑制草鱼呼肠孤病毒感染草鱼肾细胞。WANG 等^[6]用 EGCG 处理感染白斑综合症病毒(WSSV)的拟穴青蟹 *Scylla paramamosain*, 攻毒实验结果发现 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ EGCG 能抑制病毒复制,显著增强拟穴青蟹抗 WSSV 感染的能力,其存活率显著提高。黄芪 *Radix astragali*, 金银花 *Lonicerae japonica* 及板蓝根 *Isatidis radix* 等对病毒的复制也有显著的抑制作用^[7]。

2.2 中草药通过免疫调节作用抗病毒

中草药除了能直接抑制病毒复制以外,还可以通过诱发机体产生干扰素或提高机体的非特异性免疫水平以达到抑制病毒感染的目的。HAETRAKUL 等^[8]发现在鲤鱼 *Cyprinus carpio* 感染鲤疱疹病毒 3 型(CyHV-3)前后注射 $0.99 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的扭序花 *Clinacanthus nutans* 叶片提取物均具有显著的抗病毒作用。BALASUBRAMANIAN 等^[9]用印度木橘 *Aegle marmelos*, 苦瓜 *Momordica charantia* 和狗牙根 *Cynodon dactylon* 的提取物作为免疫增强剂喂养斑节对虾 *Penaeus monodon*, 表明攻毒实验对抵抗对虾白斑综合症作用较强,其中使用 $100.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的狗牙根水提取物喂食后攻毒存活率可达 100%。进一步研究^[10]发现:狗牙根水提取物对对虾白斑综合症病毒抑制作用较强,饲料中添加 $20.00 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的水提取物粉末,斑节对虾攻毒试验成活率可达 100%。RAMESHTHANGAM 等^[11]以添加 200.00 和 $300.00 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水黄皮 *Pongamia pinnata* 叶片乙醇提取物粉末的饲料投喂斑节对虾,饲喂 11 d 后,白斑综合症病毒(WSSV)攻毒成活率可达 40%和 80%。YOGESWARAN 等^[12]用对虾白斑综合症病毒感染斑节对虾,用添加印度人苋 *Acalypha indica*, 狗牙根, 胡黄连 *Picrorhiza scrophulariiflora*, 南非醉茄 *Withania somnifera* 和生姜 *Zingiber officinale* 等提取物作为免疫增强剂喂食,5 d 后未添加免疫增强剂的全部死亡,而投喂添加草本免疫增强剂的饲料 5, 30 和 60 d, 成活率分别为 30%, 50%和 60%。DIREKBUSARAKOM 等^[13]发现扭序花叶片提取物可有效防治斑节对虾黄头病,添加量为 $1.00 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 防治效果最好。由此证实中草药可以有效帮助虾蟹抵抗 WSSV 感染。

3 中草药的抑菌抗菌作用

3.1 中草药的直接抑菌抗菌作用

一些中草药对病原细菌存在一定的直接杀灭或抑制作用,如黄芪,黄芩 *Scutellaria baicalensis*,金银花,地锦草 *Euphorbia humifusa*,蒲公英 *Taraxacum mongolicum*,穿心莲 *Andrographis paniculata*,板蓝根,五倍子 *Galla chinensis*,大蒜 *Allium sativum*,杜仲 *Eucommia ulmoides*,甘草 *Glycyrrhiza uralensis*等。SYAHIDAH等^[14]研究发现槟榔 *Piper betle* 叶提取物对芽孢杆菌 *Bacillus*,尿肠球菌 *Enterococcus faecalis*,金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*,无乳链球菌 *Streptococcus agalactiae*,嗜水气单胞菌 *Aeromonas hydrophila*,大肠埃希菌 *Escherichia coli*,肺克雷伯氏菌 *Klebsiella pneumoniae*,绿浓杆菌 *Pseudomonas aeruginosa*和溶藻弧菌 *Vibrio alginolyticus*等9种鱼类病原菌均有较强的抑制作用。SHEIKHLAR等^[15]对柠檬 *Citrus limon*,飞扬草 *Euphorbia hirta*和葫芦巴 *Trigonella foenum-graecum*进行了体外抗菌实验,发现飞扬草的甲醇提取物与其他草药相比具有较大的抑制效果和最低抑制浓度。

3.2 中草药调节肠道内菌群结构的作用

除了直接的体外抑菌效果以外,中草药还具有调节肠道内菌群结构的作用,尤其是降低有害病菌的数量。罗琳等^[16]给草鱼分组投喂了添加了5.00,10.00和20.00 g·kg⁻¹穿心莲的饲料,试验的第1,4,7,14,21,28天取样检测肠内菌群的种类和数量,发现穿心莲并不会影响肠内大部分优势菌群的生长,但是当饵料添加量为10.00和20.00 g·kg⁻¹时,气单胞菌的数目明显减少。刘红柏等^[17]报道,将黄芪,茯苓 *Wolfiporia extensa*,黄芩,板蓝根及鱼腥草 *Houttuynia cordata*等5种中草药添加在饲料中投喂鲤鱼,可以明显改变鲤鱼肠道细菌数量及组成,尤其可以增加肠道里的有益菌群,有效限制大部分条件致病菌的滋生。肠道内有益菌群占优势能有效防治致病菌引起的各种疾病尤其是细菌性肠炎,而该病是导致鱼类大量死亡的重要疾病。

3.3 中草药提高抗菌免疫功能的作用

中草药能有效提高鱼类溶菌酶活性和血细胞吞噬活性,预防和治疗如嗜水气单胞菌,溶藻弧菌,发光杆菌 *Photobacterium*,链球菌 *Streptococcus*,迟缓爱德华氏菌 *Edwardsiella tarda*,柱状黄杆菌 *Flavobacterium columnare*等细菌性疾病。罗庆华^[18]将杜仲叶研磨成粉添加在鲤鱼饲料中,投喂1个月后,鲤鱼的免疫应答水平有效提高,对嗜水气单胞菌的抗感染的能力显著增强;添加量为40.00和60.00 g·kg⁻¹的抗菌效果最好的。ARDÓ等^[19]将黄芪和金银花单独或一同增添在尼罗罗非鱼 *Oreochromis niloticus*的饲料中均可以显著提高血细胞的吞噬活性,单施或共用2种中草药添加剂均可以降低感染嗜水气单胞菌后的死亡率。DHAYANITHI等^[20]给感染溶藻弧菌的黑双带小丑鱼 *Amphiprion sebae*投喂质量分数10,20,40 g·kg⁻¹海榄雌 *Avicennia marina*叶提取物的饲料,发现存活率分别为70%,80%和85%,而对照组的存活率只有10%。CHOI等^[21]发现1.00 g·kg⁻¹韩国槲寄生 *Viscum coloratum*提取物可显著增强日本鳗鲡 *Anguilla japonica*的非特异性免疫功能,提高受到嗜水气单胞菌感染的鳗鲡的溶菌酶活性,同时提高存活率至80%。KAKOOLAKI等^[22]发现使用200.00 mg·kg⁻¹的茶 *Camellia sinensis*提取物可提高鲮鱼 *Mugil cephalus*的血液免疫指标和溶菌酶活性,增强鲮鱼对发光杆菌 *Photobacterium damsela*感染的抵抗力。SUKUMARAN等^[23]将8.00 g·kg⁻¹的生姜添加到饲料中喂饲野鲮 *Labeo rohita*,发现可显著提高其溶菌酶活性和对嗜水气单胞菌感染的抵抗力。WU等^[24]研究发现苦参 *Sophora flavescens*能促进尼罗罗非鱼的非特异性免疫反应,尤其可提高血清溶菌酶活性,显著增强对链球菌的抗病能力。NGUGI等^[25]发现刺荨麻 *Urtica dioica*对鱼的免疫功能有影响;用添加了刺荨麻的饲料投喂鱼,血浆皮质醇、葡萄糖、甘油三酯和胆固醇等血清学指数降低,而总蛋白、白蛋白等随着刺荨麻添加量的增加而增加;当添加量为50.00 g·kg⁻¹时鱼嗜水气单胞菌攻毒成活率高达95%。GOBI等^[26]使用番石榴 *Psidium guajava*叶提取物喂饲罗非鱼 *Oreochromis* spp.,提高了非特异性细胞免疫(过氧化物酶活性、活性氧活性和活性氮活性)和体液免疫(蛋白酶活性、补体活性、溶菌酶活性和碱性磷酸酶活性),并显著降低了罗非鱼感染嗜水气单胞菌后的死亡率。TANG等^[27]对尼罗罗非鱼使用黄芪,当归 *Angelica sinensis*,山楂 *Crataegus*,甘草根和金银花组成的中药合剂来研究对免疫反应和抗病能力的影响,嗜水气单胞菌攻毒试验发现:相比于对照组,试验组的死亡率明显降低。姜蕾等^[28]以含5.00和10.00 g·kg⁻¹的五倍子药饵饲喂鲤鱼,测

定鲤鱼肝脏的酸性磷酸酶活性和碱性磷酸酶活性发现: 五倍子添加剂可以有效预防鲤鱼的细菌性败血症。RATTANACHAIKUNSOPON 等^[29]发现积雪草 *Centella asiatica* 提取物可以显著提高尼罗罗非鱼对柱状黄杆菌的抗菌活性。HARIKRISHNAN 等^[30]发现投喂黄芩后条石鲷 *Oplegnathus fasciatus* 的免疫指标显著上升, 迟缓爱德华氏菌引起的死亡有效降低。MOHAMMED 等^[31]发现在饲料中添加黑种草 *Nigella sativa* 的种子粉 ($50.00 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 或种子油提取物 ($50 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 均能有效增强斑点叉尾鲷 *Ictalurus punctatus* 抗柱状黄杆菌感染的能力, 并使感染后的死亡率从 70% 降低至 18%。

除了鱼类, 中草药还能提高其他水产动物的免疫力(如血细胞吞噬活性和酶活性), 以抵抗细菌感染, 减少死亡。NG'AMBI 等^[32]发现了皂苷对三疣梭子蟹 *Portunus trituberculatus* 有免疫刺激作用, 可提高吞噬活性、血细胞总数、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、酚氧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶的活性, 增强三疣梭子蟹对溶藻弧菌免疫防御力。陈超然等^[33]发现: 添加 $35.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 甘草素的饲料喂饲, 能显著提高中华鳖 *Trionyx sinensis* 抗嗜水气单胞菌感染的能力。YEH 等^[34]发现台湾牛樟 *Cinnamomum kanehirae* 叶和枝的精油或水提取物可以使凡纳滨对虾 *Litopenaeus vannamei* 产生显著的抑制革兰氏阳性菌和阴性菌的作用, 其中牛樟枝水提取物可降低凡纳滨对虾对溶藻弧菌的敏感程度, 大幅提高酚氧化酶活性和血细胞吞噬活性。HSIEH 等^[35]发现注射香椿 *Toona sinensis* 提取物芦丁能显著提高凡纳滨对虾的酚氧化酶活力并有效降低溶藻弧菌攻毒后的凡纳滨对虾死亡率。MUSTHAFI 等^[36]研究发现饲料中增添喜来芝可使罗氏沼虾 *Macrobrachium rosenbergii* 的酚氧化酶和超氧化物歧化酶的活性显著增加, 并在嗜水气单胞菌攻毒后显著降低罗氏沼虾的死亡率。

4 中草药的抗寄生虫作用

一些过去常用的水产用杀虫剂, 如化学药剂类的呋喃唑酮和敌百虫, 抗生素类的阿维菌素等都被证实会对环境造成污染和危害^[37-38]。虽然水产养殖中寄生虫病害时有发生, 但是将中草药应用于抗寄生虫的研究报道仍较少。

车轮虫 *Trichodina* 是常见的水产动物寄生虫, 吴伟等^[39]将印楝 *Azadirachta indica* 中提取的印楝素添加至斑马鱼 *Danio rerio* 饵料, 发现对斑马鱼的 48 和 96 h 的半数致死质量浓度值分别是 41.90 和 $23.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 作为中低毒鱼药, 印楝素对鱼的安全浓度 $\leq 2.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 进一步研究表明: 在安全浓度范围内印楝素对车轮虫具有较强的灭杀效果。张继平等^[40]用超声法提取苦参中的生物碱, 发现浸泡用药可以有效驱杀鳊鱼 *Siniperca chuatsi* 鳃部寄生的车轮虫, 表明苦参所含有的生物碱对车轮虫有驱杀作用。王永^[41]从苦豆子 *Sophora alopecuroides* 总碱中分离出槐果碱单体, 灌胃给药发现槐果碱可以有效杀灭小白鼠肠道内寄生的线虫 *Caenorhabditis elegans*, 这一研究成果为中草药防治线虫病提供了有益的参考。王玉群^[42]发现苦楝 *Melaleuca cortex* 皮, 苦参, 博落回 *Macleaya cordata* 和仙鹤草 *Agrimoniae herba* 粗提取物可以有效杀灭草鱼锚头鳋 *Lernaea ctenopharyngodontis* 的无节幼体, 24 h 内的杀虫活性表现为苦参 > 仙鹤草 > 博落回 > 苦楝皮。指环虫 *Dactylogyrus ctenopharyngodonid* 和小瓜虫 *Lchthyophthirius multifiliis* 是淡水鱼的 2 种重要寄生虫, 共同感染导致鱼类死亡率较高; FU 等^[43]发现用添加 $4.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的黄芪, 大蒜, 桑 *Morus alba* 叶和甘草的复方中草药的饲料喂饲后, 草鱼血清中酸性磷酸酶、碱性磷酸酶、溶菌酶、超氧化物歧化酶的活性显著增强, 指环虫和小瓜虫的平均强度均明显下降; 合并 $4.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 生姜浴后, 所有的寄生虫在 28 d 内被清除。刺激隐核虫 *Cryptocaryon irritans* 是 20 多种海水养殖鱼类的主要寄生虫, 使海水鱼类养殖业遭受巨大的经济损失。刘婷婷^[44]比较分析了槟榔, 苦参, 大黄 *Rheum palmatum*, 贯众 *Cyrtotium fortunei*, 黄芩, 川楝子 *Toosendan fructus* 等 15 种中草药对刺激隐核虫滋养体和幼虫的离体杀灭效果, 当槟榔的药物质量浓度为 $4.55 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 在 110 min 内即可杀灭滋养体和幼虫; 当大黄、贯众、黄连 *Coptis chinensis* 和苦参的药物质量浓度为 $9.09 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 在 150 min 内对滋养体和幼虫具有杀灭效果, 杀虫活性表现为苦参 > 大黄 > 黄连 > 贯众; 当药物质量浓度为 $18.18 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 黄芩、川楝子、野菊 *Dendranthema indicum* 花和枳壳(酸橙 *Citrus aurantium* 果实制成)需要 183 min 才能杀灭滋养体和幼虫, 而黄芪等其他 6 种中草药杀灭刺激隐核虫滋养体的效果不显著。实验结果表明槟榔、苦参、大黄、贯众和黄连对刺激隐核虫的杀虫效果较为显著, 黄芩、枳壳、川楝子和野菊花对刺激隐核虫具有一定的杀虫效果。

5 中草药的免疫促进作用

5.1 中草药对鱼类的促进作用

中草药能显著提高鱼类的特异性和非特异性免疫水平,大大减少鱼类患病的概率。BAHI等^[45]发现投喂葫芦巴种子后金头海鲷 *Sparus aurata* 体液免疫参数显著提高,免疫相关基因特别是 IgM 基因在头肾的表达显著增强。HOSEINIFAR等^[46]研究发现将白梭梭 *Haloxylon persicum* 用作为添加剂投喂鲤鱼,可使鲤鱼的一些免疫指标,如免疫球蛋白、溶菌酶、蛋白酶和补体活性等显著升高,免疫指标在皮肤黏液中的提升比在血清中更明显;与此同时鲤鱼的增质量、最终体质量、饲料转化率和特定生长率等生长指标也显著提高。陈孝焯等^[47]在饲喂异育银鲫 *Carassius auratus gibelio* 的饵料中分别添加了 10.00 g·kg⁻¹ 的大黄、穿心莲、板蓝根和金银花的水提取物,投喂 4 周后发现各组白细胞吞噬活性、体表黏液和血清中溶菌酶活性均显著提高。YUNIS-AGUINAGA等^[48]发现卡姆果 *Myrciaria dubia* 可使尼罗罗非鱼对嗜水气单胞菌的免疫反应显著增强,包括溶菌酶活性、呼吸爆发活性、血清杀菌活性、白细胞总数和直接凝集作用等。SAFARI等^[49]发现饲料中添加阿魏 *Ferulae resina* 有助于提高鲤鱼免疫和生长相关基因的表达,显著增强皮肤黏液中溶菌酶活性。WU等^[50]发现在饲料中添加 10.00 或 20.00 g·kg⁻¹ 的车前草 *Plantago asiatica* 和鱼腥草可有效提高军曹鱼 *Rachycentron canadum* 非特异性免疫指标,如超氧化物歧化酶活性、活性氧生成、吞噬率、吞噬指数和溶菌酶活性等。CHEN等^[51]发现黄连素(berberine)可使团头鲂 *Megalobrama amblycephala* 的酸性磷酸酶、溶菌酶活性和补体 C3, C4 含量等免疫指标明显提高,并使高脂饲料喂养后的氧化应激进程显著减缓,细胞凋亡率降低。MUSTHAF等^[52]发现南瓜 *Cucurbita moschata* 子对莫桑比克罗非鱼 *Oreochromis mossambicus* 的生长性能、先天免疫反应和抗氧化作用的都有较好的促进作用。在 4.00 和 6.00 g·kg⁻¹ 添加量下喂养 4 周,鱼体补体活性、吞噬细胞活性和溶菌酶活性,显著提高。YUNIS-AGUINAGA等^[53]发现猫爪草 *Ranunculus ternatus* 可以促进尼罗罗非鱼的免疫功能,提高生长性能。BINAI等^[54]在饲料中添加 120.00 g·kg⁻¹ 的大蓍麻 *Girardinia diversifolia*,投喂欧洲鳊 *Huso huso* 8 周后,与对照组相比,处理组鱼的中性粒细胞和血红蛋白水平显著增加,红细胞与红细胞比容显著提高,表明大蓍麻有助于改善欧洲鳊血液生化指标和免疫机能。GUARDIOLA等^[55]将葫芦巴种子与乳酸菌混合饲喂金头海鲷,2~3 周后,皮肤黏液中 IgM 水平,酶活性(蛋白酶、碱性磷酸酶、酯酶)显著提高。ADEL等^[56]发现添加 30.00 g·kg⁻¹ 的薄荷 *Menthae haplocalycis* 能显著提高里海白鱼 *Rutilus frisii kutum* 血液和体液免疫指标。

5.2 中草药对其他水产动物非特异性免疫的促进作用

除了鱼类以外,中草药还能提高其他较低等水产养殖动物的基础免疫水平。XUE等^[57]用 10.00, 30.00 和 50.00 g·kg⁻¹ 的复方中草药制剂以及 10.00 g·kg⁻¹ 的山楂,10.00 g·kg⁻¹ 黄芪添加在饲料中投喂皱纹盘鲍 *Haliotis discus*,结果显示,除了 10.00 g·kg⁻¹ 复方中草药制剂组外,其他各组血细胞吞噬活性、呼吸氧爆发活性均显著提高,50.00 g·kg⁻¹ 复方中草药制剂添加组的血清凝集效价显著增强。薛继鹏^[58]将山楂和黄芪分别加入皱纹盘鲍的饲料中并连续投喂 80 d,发现两者均能显著提高皱纹盘鲍的非特异性免疫指标。王吉桥等^[59]用大蒜油等皂苷类天然活性物质制成复方制剂喂饲对虾,后者血细胞的吞噬率和杀伤率显著提高。

6 存在的问题及前景展望

当前,中草药研究大多集中在体内或体外的抗病毒研究上,抗菌抑菌实验或免疫力实验也有报道,但过于侧重对使用效果的判断,而对药物有效成分和药效针对的靶器官等方面研究较少。传统复方中草药制剂成份复杂,作用机制不清楚,不同中草药间的协同、拮抗作用机制的研究报道也较少,如黄连与连翘 *Forsythia suspensa* 配伍时,黄连的抗菌性可增强 6 倍,但其内在机制却并不清楚。因此,今后研究应在传统中医药理论上加强中草药的基础理论研究,逐步弄清渔业常见中草药的有效成分及其作用机制;加强单一中草药及其提取物的研究,深入探讨药理学和毒理学理论,借鉴现代药学的先进经验逐步改进中草药有效成分的提取工艺,改进给药方式,提高中草药用于病害防治的效率,指导水产养殖动物疾病的防治。

7 参考文献

- [1] 唐克轩. 中草药生物技术[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2005.
- [2] 陈雅竹, 管晓燕, 肖茜文, 等. 中草药在正畸牙移动牙周组织改建中的作用[J]. 中国组织工程研究, 2014, **18**(46): 7477 - 7481.
CHEN Yazhu, GUAN Xiaoyan, XIAO Qianwen, *et al.* The function of Chinese herbal medicine in the reconstruction of periodontal tissue during orthodontic tooth movement [J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2014, **18**(46): 7477 - 7481.
- [3] 中华人民共和国农业部. 食品动物禁用的兽药及其它化合物清单[EB/OL]. (2009-04-09)[2018-06-28]. http://www.moa.gov.cn/gk/tzgg_1/gg/201006/t20100606_1535262.htm.
- [4] 胡元亮. 中药饲料添加剂的开发与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [5] WANG Hao, LIU Weisha, YU Fei, *et al.* Identification of (-)-epigallocatechin-3-gallate as a potential agent for blocking infection by grass carp reovirus [J]. *Arch Virol*, 2016, **161**(4): 1053 - 1059.
- [6] WANG Zhi, SUN Baozhen, ZHU Fei. Epigallocatechin-3-gallate inhibit replication of white spot syndrome virus in *Scylla paramamosain* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2017, **67**: 612 - 619.
- [7] 王国霞. 中草药抗 H9N2 亚型禽流感病毒的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2005.
WANG Guoxia. *Study on Chinese Herbal Medicine Against H9N2 Subtype Avian Influenza Virus* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2005.
- [8] HAETRAKUL T, DUNBAR S G, CHANSUE N. Antiviral activities of *Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau extract against Cyprinid herpesvirus 3 in koi (*Cyprinus carpio koi*) [J]. *J Fish Dis*, 2018, **41**(4): 581 - 587.
- [9] BALASUBRAMANIAN G, SARATHI M, KUMAR S R, *et al.* Screening the antiviral activity of Indian medicinal plants against white spot syndrome virus in shrimp [J]. *Aquaculture*, 2007, **263**(1/4): 15 - 19.
- [10] BALASUBRAMANIAN G, SARATHI M, VENKATESAN C, *et al.* Oral administration of antiviral plant extract of *Cynodon dactylon* on a large scale production against white spot syndrome virus (WSSV) in *Penaeus monodon* [J]. *Aquaculture*, 2008, **279**(1): 2 - 5.
- [11] RAMESHTHANGAM P, RAMASAMY P. Antiviral activity of bis (2-methylheptyl) phthalate isolated from *Pongamia pinnata* leaves against white spot syndrome virus of *Penaeus monodon* Fabricius [J]. *Virus Res*, 2007, **126**(1/2): 38 - 44.
- [12] YOGESWARAN A, VELMURUGAN S, PUNITHA S M J, *et al.* Protection of *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus by inactivated vaccine with herbal immunostimulants [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2012, **32**(6): 1058 - 1067.
- [13] DIREKBUSARAKOM S, RUANGPAN L, EZURA Y, *et al.* Protective efficacy of *Clinacanthus nutans* on yellow-head disease in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) [J]. *Fish Pathol*, 1998, **33**(4): 401 - 404.
- [14] SYAHIDAH A, SAAD C R, HASSAN M D, *et al.* Phytochemical analysis, identification and quantification of antibacterial active compounds in betel leaves, *Piper betle* methanolic extract [J]. *Pakistan J Biol Sci*, 2017, **20**(2): 70 - 81.
- [15] SHEIKHLAR A, MENG G Y, ALIMON R, *et al.* Dietary Euphorbia hirta extract improved the resistance of African catfish, *gariepinus* to *Aeromonas hydrophila* [J]. *J Aquatic Animal Health*, 2017, **29**(4): 225 - 235.
- [16] 罗琳, 陈孝煊, 蔡雪峰. 穿心莲对草鱼肠内细菌的影响[J]. 水产学报, 2001, **25**(3): 232 - 237.
LUO Lin, CHEN Xiaoxuan, CAI Xuefeng. Effects of *Andrographis paniculata* on the variation of intestinal microflora of *Ctenopharyngodon idellus* [J]. *J Fish China*, 2006, **25**(3): 232 - 235.
- [17] 刘红柏, 张颖, 杨雨辉, 等. 5 种中草药作为饲料添加剂对鲤肠内细菌及生长的影响[J]. 大连水产学院学报, 2004, **19**(1): 16 - 20.
LIU Hongbai, ZHANG Ying, YANG Yuhui, *et al.* Effect of five Chinese herb medicines as additive in feed on the growth and intestinal microflora in common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *J Dalian Fish Univ*, 2004, **19**(1): 16 - 20.
- [18] 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.
LUO Qinghua. Effects of *Eucommia* leaf powder on carp's immunization [J]. *J Hunan Agric Univ Nat Sci*, 2002, **28**(1): 51 - 53.
- [19] ARDÓ L, YIN Guojun, XU Pao, *et al.* Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron

- enhance the non-specific immune response of *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila* [J]. *Aquaculture*, 2008, **275**: 26 – 33.
- [20] DHAYANITHI N B, KUMAR T T A, AROCKIARAJ J, *et al.* Dietary supplementation of *Avicennia marina* extract on immune protection and disease resistance in *Amphiprion sebae* against *Vibrio alginolyticus* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2015, **45**(1): 52 – 58.
- [21] CHOI S H, PARK K H, YOON T J, *et al.* Dietary Korean mistletoe enhances cellular non-specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*) [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2008, **24**(1): 67 – 73.
- [22] KAKOOLAKI S, AKBARY P, ZORRIEHZAHRA M J, *et al.* Camellia sinensis supplemented diet enhances the innate non-specific responses, haematological parameters and growth performance in *Mugil cephalus* against *Photobacterium damsela* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2016, **57**: 379 – 385.
- [23] SUKUMARAN V, PARK S C, GIRI S S. Role of dietary ginger *Zingiber officinale* in improving growth performances and immune functions of *Labeo rohita* fingerlings [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2016, **57**: 362 – 370.
- [24] WU Yingrui, GONG Qingfang, FANG Hong, *et al.* Effect of *Sophora flavescens* on non-specific immune response of tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*) and disease resistance against *Streptococcus agalactiae* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2013, **34**(1): 220 – 227.
- [25] NGUGI C C, OYOO-OKOTH E, MUGO-BUNDI J, *et al.* Effects of dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*) on the growth performance, biochemical, hematological and immunological parameters in juvenile and adult Victoria Labeo (*Labeo victorianus*) challenged with *Aeromonas hydrophila* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2015, **44**(2): 533 – 541.
- [26] GOBI N, RAMYA C, VASEEHARAN B, *et al.* *Oreochromis mossambicus* diet supplementation with *Psidium guajava* leaf extracts enhance growth, immune, antioxidant response and resistance to *Aeromonas hydrophila* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2016, **58**: 572 – 583.
- [27] TANG Jufen, CAI Jia, LIU Ran, *et al.* Immunostimulatory effects of artificial feed supplemented with a Chinese herbal mixture on *Oreochromis niloticus* against *Aeromonas hydrophila* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2014, **39**(2): 401 – 406.
- [28] 姜蕾, 郑曙明. 五倍子对鲤鱼细菌性败血症的药效试验初报[J]. 中国农学通报, 2006, **22**(5): 460 – 464.
JIANG Lei, ZHENG Shuming. Pharmacodynamic studies on Chinese nutgall against bacterial septicemia of carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2006, **22**(5): 460 – 464.
- [29] RATTANACHAIKUNSOPON P, PHUMKHACHORN P. Use of Asiatic pennywort *Centella asiatica* aqueous extract as a bath treatment to control columnaris in *Nile tilapia* [J]. *J Aquatic Anim Health*, 2010, **22**(1): 14 – 20.
- [30] HARIKRISHNAN R, KIM M C, KIM J S, *et al.* Protective effect of herbal and probiotics enriched diet on haematological and immunity status of *Oplegnathus fasciatus* (Temminck & Schlegel) against *Edwardsiella tarda* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2011, **30**(3): 886 – 893.
- [31] MOHAMMED H H, ARIAS C R. Protective efficacy of *Nigella sativa* seeds and oil against columnaris disease in fishes [J]. *J Fish Dis*, 2016, **39**(6): 693 – 703.
- [32] NG'AMBI J W, LI Ronghua, MU Changkao, *et al.* Dietary administration of saponin stimulates growth of the swimming crab *Portunus trituberculatus* and enhances its resistance against *Vibrio alginolyticus* infection [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2016, **59**: 305 – 311.
- [33] 陈超然, 陈晓辉, 陈昌福. 口服甘草素对中华鳖稚鳖抗嗜水气单胞菌感染的作用[J]. 华中农业大学学报, 2000, **19**(6): 577 – 580.
CHEN Chaoran, CHEN Xiaohui, CHEN Changfu. Effect of feeding *Glycyrrhizine* on the resistance of Chinese soft-shelled turtle (*Peiodiscus sinensis*) against *Aeromonas hydrophila* [J]. *J Huazhong Agric Univ*, 2000, **19**(6): 577 – 580.
- [34] YEH R Y, SHIU Y L, SHEI S C, *et al.* Evaluation of the antibacterial activity of leaf and twig extracts of stout camphor tree, *Cinnamomum kanehirae*, and the effects on immunity and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2009, **27**(1): 26 – 32.
- [35] HSIEH T J, WANG J C, HU Chunyi, *et al.* Effects of rutin from *Toona sinensis* on the immune and physiological responses of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under *Vibrio alginolyticus* challenge [J]. *Fish Shellfish Immunol*,

- 2008, **25**(5): 581 – 588.
- [36] MUSTHAFA M S, ALI A R J, ALI R A R, *et al.* Effect of *Shilajit* enriched diet on immunity, antioxidants, and disease resistance in *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) against *Aeromonas hydrophila* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2016, **57**: 293 – 300.
- [37] 张娟. 阿维菌素·毒死蜱在水稻中残留消解动态研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2009.
ZHANG Juan. *Degradation Dynamics of Avermectin and Chlorpyrifos in Rice* [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2009.
- [38] 王广军. 浅谈水产动物的健康养殖与绿色渔药的开发[J]. 水产科技, 2008(6): 1 – 5.
WANG Guangjun. Healthy culture of the aquatic animal and research and developing of green fishery medicine [J]. *Fisheries Sci Technol*, 2008(6): 1 – 5.
- [39] 吴伟, 朱小惠. 印楝素对鱼的毒性及在鱼类寄生虫病防治上的应用[J]. 农药学报, 2003, **5**(2): 85 – 89.
WU Wei, ZHU Xiaohui. Toxic effects on fishes and application on the parasitic diseases control by azadirachtin [J]. *Chin J Pesticide Sci*, 2003, **5**(2): 85 – 89.
- [40] 张继平, 贺顺连, 胡卫平. 苦参不同方法提取物抗鱼体车轮虫作用的研究[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2005, **2**(2): 57 – 59.
ZHANG Jiping, HE Shunlian, HU Weiping. Effect of lustrating of fish's *Trichodinella ninuta* by extractions from lightyellow sophora (*Sophora flavescens*) through different methods [J]. *J Yangtze Univ Nat Sci Ed*, 2005, **2**(2): 57 – 59.
- [41] 王永. 槐果碱的抗炎与抗寄生虫作用研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2004.
WANG Yong. *Studies on Anti-inflammatory and Anti-parasitic Effects of Sophocarpine* [D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2004.
- [42] 王玉群. 杀灭草鱼锚头蚤无节幼体的杀虫植物活性部位的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2004.
WANG Yuqun. *The Study on Active Fractions of Pesticidal Plant in Killing Nauplius of Lernaea ctenopharyngodontis* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2004.
- [43] FU Yaowu, WANG Bin, ZHANG Qizhong, *et al.* Combined effects of Chinese medicine feed and ginger extract bath on co-infection of *Ichthyophthirius multifiliis* and *Dactylogyrus ctenopharyngodonid* in grass carp [J]. *Parasitol Res*, 2017, **116**(7): 2017 – 2025.
- [44] 刘婷婷. 红鳍东方鲀刺激隐核虫病中草药防治及其血清免疫球蛋白 IgM 的纯化和特性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
LIU Tingting. *Chinese Herbal Medicine and Purification and Analysis of Serum Igm in Takifugu rubripes* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015.
- [45] BAH I A, GUARDIOLA F A, MESSINA C, *et al.* Effects of dietary administration of fenugreek seeds, alone or in combination with probiotics, on growth performance parameters, humoral immune response and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2017, **60**: 50 – 58.
- [46] HOSEINIFAR S H, ZOHEIRI F, LAZADO C C. Dietary phytoimmunostimulant Persian hogweed (*Heracleum persicum*) has more remarkable impacts on skin mucus than on serum in common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2016, **59**: 77 – 82.
- [47] 陈孝煊, 吴志新, 殷居易, 等. 大黄、穿心莲、板蓝根和金银花对异育银鲫免疫机能的影响[J]. 中国水产科学, 2003, **10**(1): 36 – 40.
CHEN Xiaoxuan, WU Zhixin, YIN Juyi, *et al.* Effect of four species of herbs on immune function of *Carassius auratus gibelio* [J]. *J Fishery Sci China*, 2003, **10**(1): 36 – 40.
- [48] YUNIS-AGUINAGA J, FERNANDES D C, ETO S F, *et al.* Dietary camu camu, *Myrciaria dubia*, enhances immunological response in *Nile tilapia* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2016, **58**: 284 – 291.
- [49] SAFARI R, HOSEINIFAR S H, NEJADMOGHADAM S, *et al.* Transcriptomic study of mucosal immune, antioxidant and growth related genes and non-specific immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) fed dietary *Ferula (Ferula assafoetida)* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2016, **55**: 242 – 248.
- [50] WU Yusheng, CHEN Yinyu, UENG P S, *et al.* Effects of medicinal herbs “*Plantago asiatica*”, “*Houttuynia cordata*” and “*Mentha haplocalyx*” on non-specific immune responses of cobia (*Rachycentron canadum*) [J]. *Fish Shellfish*

- Immunol.*, 2016, **58**: 406 – 414.
- [51] CHEN Qingqing, LIU Wenbin, ZHOU Man, *et al.* Effects of berberine on the growth and immune performance in response to ammonia stress and high-fat dietary in blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* [J]. *Fish Shellfish Immunol.*, 2016, **55**: 165 – 172.
- [52] MUSTHAFA M S, ALI A R J, KUMAR M S A, *et al.* Effect of *Cucurbita mixta* (L.) seed meal enrichment diet on growth, immune response and disease resistance in *Oreochromis mossambicus* [J]. *Fish Shellfish Immunol.*, 2017, **68**: 509 – 515.
- [53] YUNIS-AGUINAGA J, CLAUDIANO G S, MARCUSO P F, *et al.* *Uncaria tomentosa* increases growth and immune activity in *Oreochromis niloticus* challenged with *Streptococcus agalactiae* [J]. *Fish Shellfish Immunol.*, 2015, **47**(1): 630 – 638.
- [54] BINAII M, GHIASI M, FARABI S M V, *et al.* Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*) [J]. *Fish Shellfish Immunol.*, 2014, **36**(1): 46 – 51.
- [55] GUARDIOLA F A, BAHI A, BAKHROUF A, *et al.* Effects of dietary supplementation with fenugreek seeds, alone or in combination with probiotics, on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) skin mucosal immunity [J]. *Fish Shellfish Immunol.*, 2017, **65**: 169 – 178.
- [56] ADEL M, AMIRI A A, ZORRIEHZAHRA J, *et al.* Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) [J]. *Fish Shellfish Immunol.*, 2015, **45**(2): 841 – 847.
- [57] XUE Jipeng, XU Yongping, JIN Liji, *et al.* Effects of traditional Chinese medicine on immune responses in abalone, *Haliotis discus hannai* Ino [J]. *Fish Shellfish Immunol.*, 2008, **24**(6): 752 – 758.
- [58] 薛继鹏. 中草药饲料添加剂对皱纹盘鲍生长和免疫的影响[D]. 大连: 大连理工大学, 2007
XU Jipeng. *Effects of Traditional Chinese Medicine on Growth and Immune Responses in Abalone, Haliotis discus hannai* Ino [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2007.
- [59] 王吉桥, 孙永新, 张剑诚. 金银花等复方草药对牙鲆生长、消化和免疫能力的影响[J]. 水产学报, 2006, **30**(1): 90 – 96.
WANG Jiqiao, SUN Yongxin, ZHANG Jiancheng. Effects of Chinese herb additives on growth, digestive activity and non-specific immunity in flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. *J Fisheries China*, 2006, **30**(1): 90 – 96.