

# 复方中草药对小丑鱼非特异性免疫、消化酶活性的影响及对刺激隐核虫杀灭效果分析

何丽斌, 杨求华, 李慧耀, 罗辉玉, 郑乐云

(福建省水产研究所, 福建 厦门 361013)

**摘要:** 刺激隐核虫寄生感染引起的“白点病”不仅危害水族箱观赏鱼类, 还会对水族馆大水体海水观赏鱼带来毁灭性打击, 是海水观赏鱼养殖业危害最为严重的病害之一。本研究探讨了在基础饲料中添加不同剂量复方中草药“XCY-1”(苦参、地肤子、蛇床子、黄芪、甘草等按一定比例混合, 超微粉碎后收集备用)对小丑鱼血清、肝脏中非特异性免疫指标和肠道消化酶活性指标变化及不同用药方式对防治刺激隐核虫病的效果。研究结果显示, 投喂复方中草药“XCY-1”可使小丑鱼血清中溶菌酶(LZM)、超氧化物歧化酶(SOD)、碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP), 肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、过氧化氢酶(CAT)、总抗氧化能力(T-AOC)活性均呈现先升后降趋势, 第 21 d 各项非特异性免疫指标达到最高值, 其中 20 g/kg 剂量组效果最好, 能显著提高小丑鱼的免疫能力; 肠道中淀粉酶(AMS)、脂肪酶(LPS)和胰蛋白酶在各取样点活性均高于对照组, 20 g/kg 剂量组在各取样点胰蛋白酶和 AMS 活性高于其他剂量组, 20 g/kg 和 40 g/kg 剂量组在各取样点 LPS 活性最高。复方中草药“XCY-1”药浴对刺激隐核虫幼虫的体外杀灭结果显示: 4 h 内, 50 mg/L 药物浓度即对刺激隐核虫幼虫具有一定的杀灭效果, 400 mg/L 药物浓度即可杀灭全部幼虫; 当药物浓度达到 800 mg/L 时, 3 h 内幼虫全部死亡。不同用药方式防治小丑鱼刺激隐核虫病: 实验分为 4 组, A 组 20 g/kg 剂量组, 口服无药浴; B 组 20 g/kg 剂量组, 口服且同时按 50 mg/L 进行药浴; C 组 20 g/kg 剂量组, 口服且同时按 100 mg/L 进行药浴; D 组为对照组, 仅投喂基础饲料。结果显示: 实验第 6 d, A、B、C 三个药物组与对照组的存活率分别为: 51.1%、53.3%、57.7%、0, 药物组存活率显著高于对照组( $P < 0.05$ ); 三个药物处理组每片鳃上仅有 0~2 个滋养体, 对照组每片鳃上滋养体数量是用药组 65 倍。综上所述, 饲料中添加复方中草药“XCY-1”可以提升小丑鱼血清、肝脏非特异性免疫指标和肠道消化酶活性, 对刺激隐核虫病起到积极的预防和治疗效果。20 g/kg 剂量组、投喂时间 14~21 d 时效果最佳。该研究为开发无公害、环保型天然植物源杀虫药提供理论参考和技术支撑。

**关键词:** 红小丑鱼; 刺激隐核虫; 中草药; 非特异性免疫; 消化酶

中图分类号: S943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2024)2-0032-11

DOI: 10.11759/hyxx20221109003

随着人们生活水平的提高、经济多元化的发展, 海洋观赏鱼走进大众视野并深受广大消费者的喜爱。目前市场上海洋观赏鱼的供应大部分依赖人工捕捞, 近年来由于人为滥捕, 海域生态遭到严重破坏, 不合理的捕获方式对珊瑚礁和鱼的体质都造成很大影响<sup>[1]</sup>, 通过人工采捕后进入市场流通的鱼其成活率不足 20%<sup>[2]</sup>, 这直接导致海洋观赏鱼数量锐减, 甚至供不应求。随着海洋观赏鱼人工繁育技术的成熟与推广, 其规模化繁养日趋成熟。小丑鱼(也称海葵鱼)隶属于雀鲷科(Pomacentridae), 海葵鱼属(*Amphiprion*)<sup>[3]</sup>, 在全世界范围内共有 20 多种<sup>[4]</sup>, 主要分布在印度洋和太

平洋水温较暖的珊瑚海域。因为小丑鱼体态娇小, 色彩靓丽, 具有较高的观赏性和商品价值, 在市场上备受青睐, 也是热带海洋观赏鱼中繁育技术最为成熟的品种之一。

收稿日期: 2022-11-09; 修回日期: 2023-01-04

基金项目: 福建省属公益科研院所基本科研专项(2021R1013001); 福建省海洋与渔业结构调整专项(2019HYJG08)

[Foundation: Basic Research Project of Fujian Provincial Public Research Institute, No. 2021R1013001; Marine and Fishery Structural Adjustment Project of Fujian Province, No. 2019HYJG08]

作者简介: 何丽斌(1971—), 女, 浙江富阳人, 副研究员, 从事海洋生物繁育技术研究, E-mail: 670170442@qq.com

刺激隐核虫(*Cryptocaryon irritans*)俗称“海水小瓜虫”，隶属于隐核虫科(Family Cryptocaryonidae)，隐核虫属(*Genus cryptocaryon*)<sup>[5-6]</sup>，是一种纤毛类专性寄生虫，大多寄生在热带海水鱼类鳃、鱼鳍、体表等部位<sup>[7-8]</sup>。鱼体感染刺激隐核虫后，其周身分布明显的白点，俗称“白点病”<sup>[9-10]</sup>，该病感染性强，传播性广，感染率、死亡率均较高，是一种严重危害海水养殖鱼类的寄生虫疾病<sup>[11-14]</sup>，给养殖户造成了巨大的经济损失<sup>[15]</sup>。近年来，刺激隐核虫病同样也殃及了不断崛起和发展的海水观赏鱼养殖业，不仅危害水族箱养殖鱼类，甚至常常给水族馆大水体海水观赏鱼带来毁灭性打击，鱼类大量死亡，造成了巨大的经济损失<sup>[16-17]</sup>。海水观赏鱼病虫害防治技术越来越受到广泛关注。

目前，对刺激隐核虫的防治方法大致分为物理学法和化学法。物理学法的方法主要为：淡水浸泡、热处理、干燥、转换养殖、紫外线和臭氧处理养殖水体等<sup>[18-21]</sup>。化学法主要为使用化合物浸泡病鱼或虫体防治刺激隐核虫病，高锰酸钾、氯化磺胺噻唑、青霉素、硫酸铜单独或联合福尔马林、生物染料、福尔马林、吡啶黄、亚甲基蓝、次氯酸钠、氯化苯甲羟铵<sup>[22-28]</sup>等均被证明可以有效可以杀灭刺激隐核虫的包囊、幼虫及成虫，对治疗该病取得了一定的效果。化学法虽然取得了一定的成效，但长期使用可降低鱼体免疫力和抗病力，还会造成环境污染。中草药是具有化学结构多样性，生物活性丰富等优势的天然药物，具有毒副作用小、安全可靠，对环境无污染等特点。本研究将苦参、地肤子、蛇床子、黄芪、甘草等为主要成分的复方中草药“XCY-1”添加到基础饲料中，探究其对小丑鱼血液、肝脏非特异性免疫指标及肠道消化酶活性的影响，并进行了对感染刺激隐核虫鱼体的药浴加口服联合杀灭效果研究，为开发无公害、环保型天然植物源杀虫药提供理论参考和技术支撑。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 实验用中草药

实验用复方中草药“XCY-1”为本实验室前期筛选配伍的药物组方，均采购于福建省厦门市同仁堂大药房，其主要成分为苦参、地肤子、蛇床子、黄芪、甘草等，经超微粉碎 200 目筛绢网过滤后收集粉末备用。

称取 2 g 药粉，加入 400 mL 海水经文火煎煮 30 min，冷却后再用灭菌海水定量调制成为 1 g/L 的母液，放置 4 ℃ 备用。各取 20 g 用 500 mL 海水浸泡 30 min 后煎煮 2 h，纱布过滤浓缩药液至 200 mL，其终浓度相当于原药 100 mg/mL。

#### 1.1.2 实验用鱼

实验用鱼取自厦门翔安福建省水产研究所观赏鱼繁育车间，挑选白条双锯鱼(*Amphiprion frenatus*)暂养于玻璃培养缸中，鱼平均体质量为(8.16±0.12) g，体长为(5.2±0.26) cm，每日分别于上午 8: 30、下午 2: 30 投喂基础饲料，持续 10 d 后开始实验，培养缸中水温控制在(26±1) ℃，PH 值在 7.5~8.1，盐度 30~32，氨 0.02 mg/L，亚硝酸盐 0.01 mg/L，溶解氧高于 5.5 mg/L。养殖用海水为二级沙滤海水。

#### 1.1.3 实验用刺激隐核虫

刺激隐核虫为本实验室建立的刺激隐核虫 ZP1 菌株，参考但学明等<sup>[29]</sup>方法，以青石斑鱼(*Epinephelus awoara*)作为动物模型进行该实验虫株传代系统，以便于获取实验用刺激隐核虫。

### 1.2 饲料处理及实验设计

将复方中草药按照 0 g/kg(对照)、5 g/kg、10 g/kg、20 g/kg、40 g/kg 的配比添加到基础水产饲料(购于厦门华普饲料有限公司)中，制成粒径为 1.5 mm 的颗粒型缓沉料。随机选取白条双锯鱼投放至实验玻璃培养缸中(L50 cm×W45 cm×H40 cm)开展实验，实验设置 5 个组，每组 3 个平行样，每缸 50 尾鱼，连续投喂 28 d，实验期间饲养管理、养殖环境与暂养期间保持一致。

### 1.3 样品的采集与制备

实验期间分别于第 7 d、14 d、21 d、28 d 随机从每组培养缸中挑取 5 尾鱼，用 0.1 mL/L 丁香酚麻醉实验鱼后，断尾采血，1 h 后置于 4 ℃ 冰箱静置过夜，10 000 r/min 离心 10 min，取上层血清；将鱼置于冰盘上解剖，取出肝脏、肠道组织。将血清及组织样本置于-80 ℃ 冰箱保存备用。

### 1.4 血清与肝脏中非特异性免疫指标及肠道消化酶活性指标测定和方法

血清中溶菌酶(lysozyme, LZM)活性，超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性，碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)，酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)；肝脏中超氧化物歧化酶(supero-

xide dismutase, SOD), 过氧化氢酶(catalase, CAT), 总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC), 谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX); 肠道中淀粉酶(amylase, AMS)、脂肪酶(lipase, LPS)、蛋白酶(protase, PRO)含量测定均使用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒, 相关操作详见说明书。

### 1.5 复方中草药“XCY-1”对刺激隐核虫幼虫的药浴杀灭实验

收集鱼体表和鳃脱落于养殖缸底部的刺激隐核虫包裹, 放入海水玻璃杯中孵化, 虹吸出孵化 1 h 内的幼虫进行实验。实验在 24 孔细胞培养板上进行, 用清洁海水将幼虫密度调整至 400 个/mL 左右, 以无菌海水调节药物终质量浓度为 50 mg/L、100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L、800 mg/L, 于每个细胞孔中加入 50  $\mu$ L 不同浓度药液和 50  $\mu$ L 含幼虫海水, 每个浓度组设置 3 个平行组, 对照组加 50  $\mu$ L 无菌海水和 50  $\mu$ L 含幼虫海水。将 24 孔板放入 26  $^{\circ}$ C 培养箱内, 于用药后 10 min、30 min、1 h、2 h、3 h、4 h 将培养板于倒置显微镜下镜检观察刺激隐核虫死亡情况。刺激隐核虫死亡判断标准: 虫体沉底且纤毛停止摆动。

### 1.6 复方中草药“XCY-1”对感染刺激隐核虫鱼体的口服加药浴联合杀灭实验

根据前期实验结果确定口服剂量为 20 g/kg<sup>[30]</sup>, 实验分为 A、B、C、D 四组, A 组按 20 g/kg 添加“XCY-1”中草药到基础饲料中, 口服无药浴; B 组按 20 g/kg 添加“XCY-1”中草药到基础饲料中, 口服且同时按 50 mg/L 进行药浴; C 组按 20 g/kg 添加“XCY-1”中草药到基础饲料中, 口服且同时按 100 mg/L 进行药浴; D 组为对照组, 仅投喂基础饲料。药浴时间为每日 19:00 至第二天早上 7:00, 投喂中草药饵料时间为每日上午 8:30 和下午 2:30。实验容器为底部锥形的玻璃钢桶, 每日在投饵 30 min 后换水 30% 并将沉底的包裹及残饵排出桶外, 实验期间饲养管理、养殖环境与暂养期间保持一致。

实验用感染鱼: 在黑暗条件下用新孵化出 1 h 内的幼虫感染红小丑鱼, 感染浓度为 10 000 个/尾/L。当鱼体表黏液、鳃丝置于光学显微镜下观察, 确认已感染刺激隐核虫或鱼体能看到“白点”时进行实验。挑选体表有少量“白点”且摄食、游动正常的初期患病鱼随机分为 3 组, 另取未感染组作为对照组, 每组设 6 个平行, 每个平行组 30 尾鱼。其中 3 个平行组为取样组, 另外 3 个平行组用于存活率的统计。

实验第 0 d、2 d、4 d、6 d 取样组每组随机挑取 3 尾鱼, 麻醉后将两侧第一片鳃剪下制成水浸片, 置于光学显微镜下计数滋养体数量; 存活率组每天观察实验鱼摄食、游动状态, 记录死亡数量。

### 1.7 数据统计分析

采用 Excel 2010 和 SPSS 20.0 统计学软件对数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 当差异显著时( $P < 0.05$ ), 用 Duncan 法进行多重比较。

## 2 结果

### 2.1 复方中草药“XCY-1”对小丑鱼血清非特异性免疫指标的影响

由图 1 可知, 投喂不同剂量复方中草药均可使小丑鱼血清中 SOD、LZM、AKP、ACP 活性呈现先升后降趋势。其中, 小丑鱼血清 SOD 活性, 第 7 d 时, 20 g/kg 和 40 g/kg 药物组 SOD 活性显著高于其他药物组和对照组( $P < 0.05$ )。第 14 d 时, 20 g/kg 药物组 SOD 活性显著高于其他药物组( $P < 0.05$ )。第 21 d, 20 g/kg 药物组 SOD 活性达到最高值且与其他药物组之间差异性显著。第 28 d, 20 g/kg 药物组 SOD 活性有所下降但仍高于其他药物组。4 个时间取样点中 20 g/kg 药物组 SOD 活性高于其他各药物组; 小丑鱼血清 LZM 活性, 第 7 d, 10 g/kg、20 g/kg 药物组活性高于对其他药物组和对照组( $P < 0.05$ )。第 14~28 d 各药物组 LZM 活性均高于对照组且差异性显著。第 21 d, 20 g/kg 药物组 LZM 活性达到最高值。4 个时间取样点中 20 g/kg 药物组 LZM 活性高于其他各药物组; 小丑鱼血清 AKP 活性, 第 7 d 时, 10 g/kg 和 20 g/kg 药物组 AKP 活性显著高于其他药物组( $P < 0.05$ )。第 14 d, 40 g/kg 药物组 AKP 活性高于其他药物组且差异性显著。第 21 d, 20 g/kg 药物组 AKP 活性达到最高值且与其他 3 个药物组间差异性显著。第 28 d, 除 10 g/kg 药物组外, 其他药物组 AKP 活性下降, 20 g/kg 药物组仍显著高于其他药物组( $P < 0.05$ ); 小丑鱼血清 ACP 活性, 第 7 d, 除 5 g/kg 药物组外, 其他三组药物组 ACP 活性显著高于对照组( $P < 0.05$ ), 但三组药物组间差异不显著( $P > 0.05$ )。第 14 d, 40 g/kg 药物组 ACP 活性显著高于其他药物组( $P < 0.05$ )。第 21 d, 20 g/kg 药物组 ACP 活性达到最高值且与其他药物组差异性显著。第 28 d 各药物组 ACP 活性下降, 10 g/kg 和 20 g/kg 药物组 ACP 活性高于其他药物组且差异显著, 但二者之间差异不显著( $P > 0.05$ )。



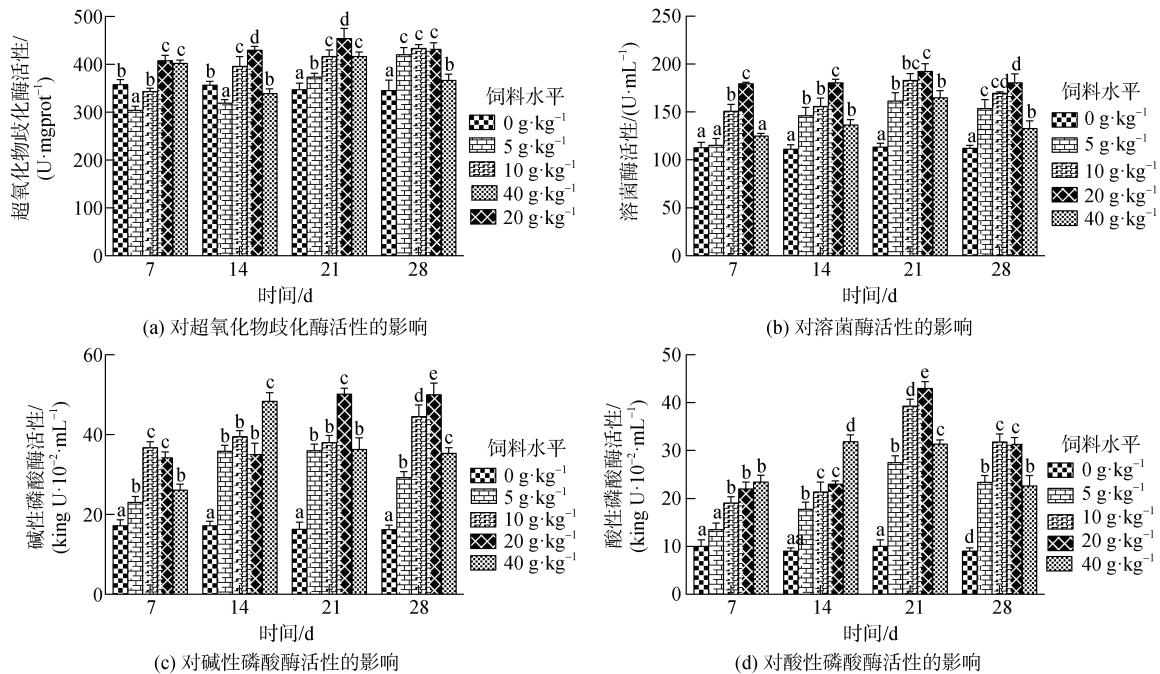


图1 复方中草药 XCY-1 对小丑鱼血清免疫指标的影响

Fig. 1 Effects of the Chinese herbal medicine XCY-1 on serum non-specific immunity indices in *A. frenatus*

注: 不同字母表示同一时间各实验组之间差异显著(P<0.05)

## 2.2 复方中草药“XCY-1”对小丑鱼肝脏非特异性免疫指标的影响

由图 2 所示, 投喂不同剂量复方中草药均可使

小丑鱼肝脏中 SOD、GSH-PX、CAT、T-AOC 活性呈现先升后降趋势, 各时间点药物组活性均显著高于对照组(P<0.05)。其中, 小丑鱼肝脏 SOD 活性, 第

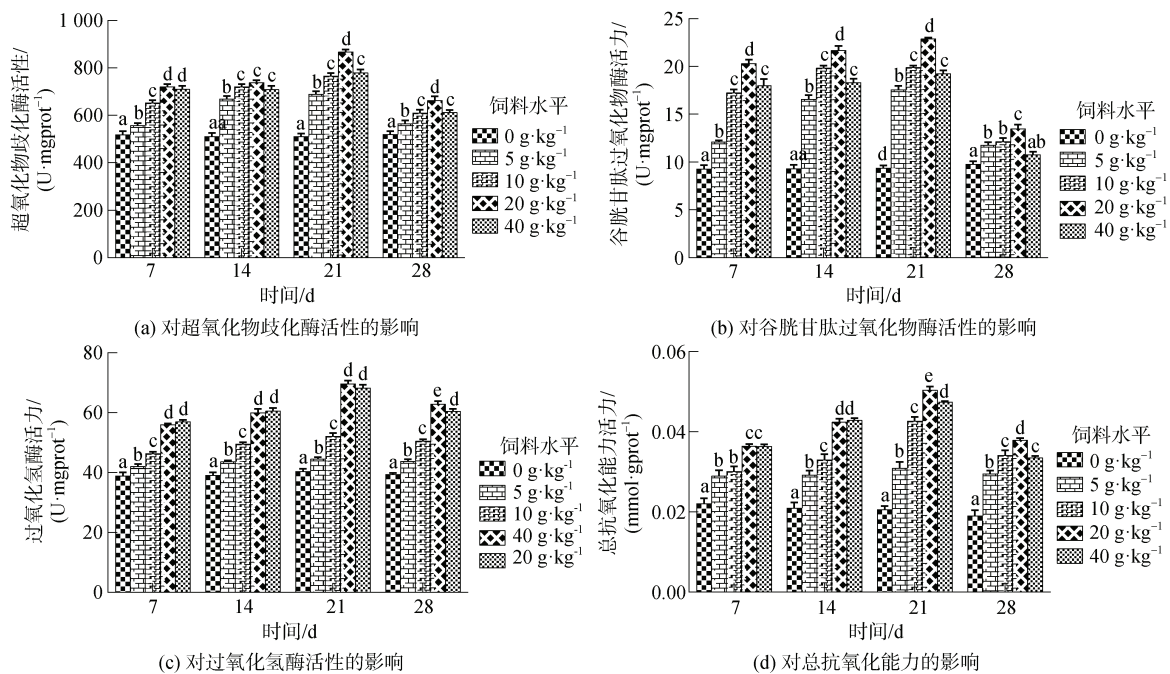


图2 复方中草药 XCY-1 对小丑鱼肝脏免疫指标的影响

Fig. 2 Effects of the Chinese herbal medicine XCY-1 on liver non-specific immunity indices in *A. frenatus*

注: 不同字母表示同一时间各实验组之间差异显著(P<0.05)

7~14 d, 20 g/kg 和 40 g/kg 药物组 SOD 活性显著高于其他药物组, 但二者之间差异性不显著( $P>0.05$ )。第 21 d, 20 g/kg 药物组 SOD 活性达到最高值且与其他药物组差异性显著( $P<0.05$ )。第 28 d 各药物组 SOD 活性下降。4 个时间取样点中 20 g/kg 药物组 SOD 活性均高于其他药物组; 小丑鱼肝脏 CAT 活性, 第 7~14 d, 20 g/kg 和 40 g/kg 药物组 CAT 活性显著高于其他药物组( $P<0.05$ ), 但二者之间差异不显著( $P>0.05$ )。第 21 d, 20 g/kg 药物组 CAT 活性达到最高值且与 5 g/kg 和 10 g/kg 药物组差异性显著。第 28 d, 各药物组 SOD 活性下降, 但 20 g/kg 药物组 CAT 活性仍显著高于其他药物组( $P<0.05$ ); 小丑鱼肝脏 T-AOC 活性, 第 7~14 d, 20 g/kg 和 40 g/kg 药物组 T-AOC 活性显著高于其他药物组( $P<0.05$ ), 但二者之间差异不显著( $P>0.05$ )。第 21 d, 20 g/kg 药物组 T-AOC 活性达到最高值且与其他药物组间差异性显著。第 28 d, 各药物组 T-AOC 活性下降, 但 20 g/kg 药物组 T-AOC 活性仍显著高于其他药物组; 小丑鱼肝脏 GSH-PX 活性, 第 7~14 d, 各药物组 GSH-PX 活性上升, 20 g/kg 药物组 GSH-PX 活性显著高于其他药物组( $P<0.05$ ), 第 21 d, 20 g/kg 药物组 GSH-PX 活性达到最高值且与其他药物组差异显著, 第 28 d, 各药物组 GSH-PX 活性下降, 4 个时间取样点中 20 g/kg 药物组 T-AOC 活性显著高于其他各药物组。

### 2.3 复方中草药“XCY-1”对小丑鱼肠道消化酶活性的影响

由图 3 所示, 投喂不同剂量复方中草药均可使小丑鱼肠道胰蛋白酶、LPS、AMS 活性升高。其中, 小丑鱼肠道胰蛋白酶活性, 第 7 d, 各药物组与对照组胰蛋白酶活性差异性不显著( $P>0.05$ )。第 14~28 d, 20 g/kg 和 40 g/kg 药物组胰蛋白酶活性显著高于其他药物组和对照组( $P<0.05$ )。第 21 d, 20 g/kg 药物组胰蛋白酶活性达到最高值。第 28 d, 各药物组胰蛋白酶活性下降, 但 20 g/kg 药物组胰蛋白酶活性仍显著高于其他药物组( $P<0.05$ ); 小丑鱼肠道 LPS 活性, 第 7~14 d, 各药物组 LPS 活性上升但差异不显著( $P>0.05$ )。第 21 d, 20 g/kg 药物组 LPS 活性达到各时间点取样的最高值。第 28 d, 20 g/kg、40 g/kg 药物组 LPS 活性显著高于其他药物组( $P<0.05$ ), 但两组间差异不显著( $P>0.05$ ); 小丑鱼肠道 AMS 活性, 第 7 d, 各药物组和对照组之间 AMS 活性差异性不显著( $P>0.05$ ), 第 14~21 d, 10 g/kg、20 g/kg 和 40 g/kg 3 个药物组 AMS 活性升高且与对照组差异性显著( $P<0.05$ ), 但 3 个药物组之间 AMS 差异性不显著。第 21 d, 20 g/kg 药物组 AMS 活性达到各时间点取样的最高值。第 28 d, 除 5 g/kg 药物组外其他药物组 AMS 活性开始下降, 各药物组活性均显著高于对照组( $P<0.05$ ), 但各药物组之间 AMS 活性差异不显著( $P>0.05$ )。

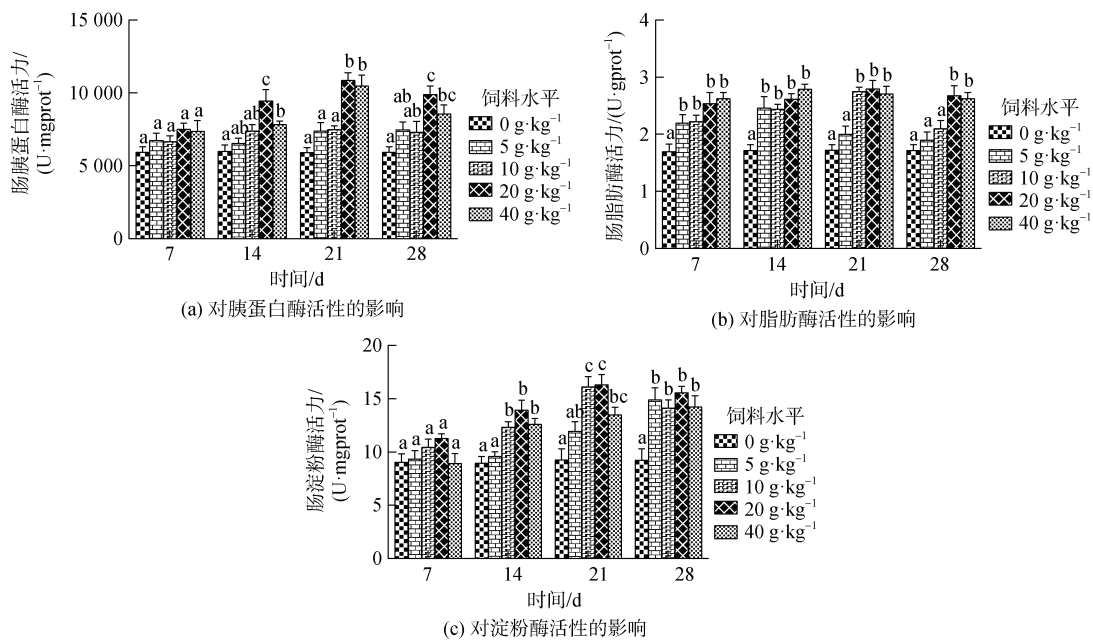


图 3 复方中草药 XCY-1 对小丑鱼消化酶活性的影响

Fig. 3 Effects of XCY-1 on *A. frenatus* digestive enzyme activities

注: 不同字母表示同一时间各实验组之间差异显著( $P<0.05$ )

## 2.4 复方中草药“XCY-1”药浴对刺激隐核虫幼虫的体外杀灭效果

由图 4 所示, 复方中草药对刺激隐核虫幼虫体外杀灭效果显著。3 h 后, 经 100, 200, 400, 800 mg/L 的复方中草药药物处理, 幼虫死亡率分别为 41.2%、62.4%、83.3%和 100%, 各药物组死亡率均显著高于对照组( $P < 0.05$ ); 4 h 后, 50, 100, 200, 400 mg/L 药物处理, 幼虫死亡率分别达, 21.3%、63.6%、82.1%和 100%, 各药物组死亡率均显著高于对照组( $P < 0.05$ )。

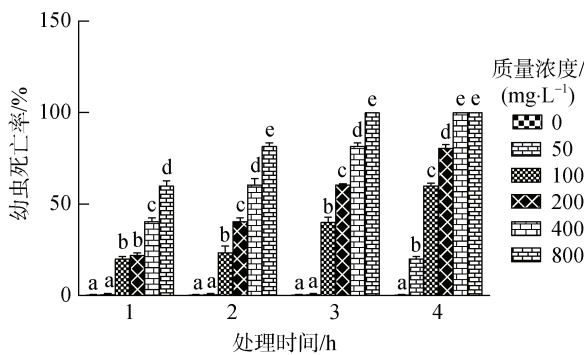


图 4 复方中草药 XCY-1 药浴 4 h 处理刺激隐核虫幼虫死亡率的影响

Fig. 4 Death rate of *C. irritans* after the XCY-1 herbal compound treatment for 4 h

注: 不同字母表示同一时间各实验组之间差异显著( $P < 0.05$ )

## 2.5 复方中草药“XCY-1”对感染刺激隐核虫鱼体的药浴加口服联合杀灭效果

实验初期对照组小丑鱼活动开始逐渐减少, 或跃于缸内, 又或侧身迅速游动蹭痒, 后期严重时, 鱼体鳃丝充血、出血严重且布满大量刺激隐核虫滋养体, 大量黏液覆盖整个鳃部, 这些状况严重影响了气体交换, 导致鱼体供氧不足, 呼吸困难直至死亡。

由图 5 所示, 实验第 6 d, A、B、C 三个药物组与对照组的存活率分别为: 51.1%、53.3%、57.7%、0, 各药物组存活率均显著高于对照组( $P < 0.05$ )。

如图 6 所示, A、B、C 三个药物组在红小丑鱼第一片鳃上的刺激隐核虫滋养体数量均显著低于对照组且差异性显著( $P < 0.05$ )。各药物处理组至第 4 d 鱼体鳃上滋养体数量明显下降, 第 6 d 药物处理组每片鳃上仅有 1~2 个滋养体, 甚至有的鳃上未观察到滋养体。对照组每片鳃上滋养体数量呈快速上升趋势, 第 4 d, 对照组滋养体数量是用药组的 14 倍左右, 第 6 d, 对照组滋养体数量是用药组 65 倍左右。

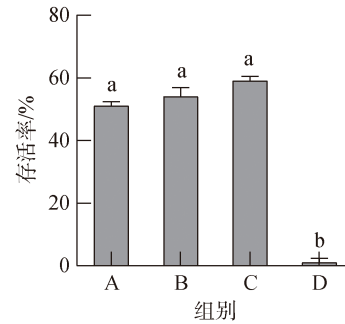


图 5 复方中草药 XCY-1 对红小丑鱼存活率的影响

Fig. 5 Survival rate of *A. frenatus* after the XCY-1 herbal compound treatment

注: A: XCY-1 饲料水平 20 mg/kg; B: XCY-1 饲料水平 20 mg/kg, 药浴浓度 50 mg/L; C: XCY-1 饲料水平 20 mg/kg, 药浴浓度 100 mg/L; D: XCY-1 饲料水平 0 mg/kg, 对照组; 不同小写字母表示同一时间各实验组之间差异显著( $P < 0.05$ )

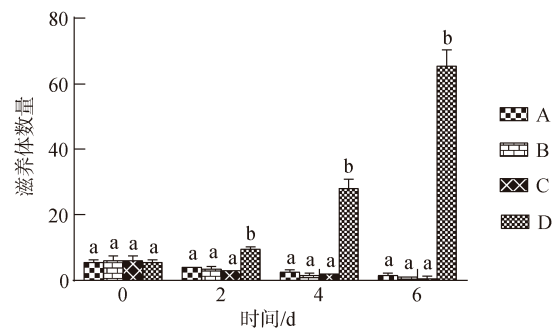


图 6 各实验组红小丑鱼鳃上滋养体数量

Fig. 6 Number of trophonts in the gill filaments

注: A: XCY-1 饲料水平 20 mg/kg; B: XCY-1 饲料水平 20 mg/kg, 药浴浓度 50 mg/L; C: XCY-1 饲料水平, 20 mg/kg, 药浴浓度 100 mg/L; D: XCY-1 饲料水平 0 mg/kg, 对照组; 不同小写字母表示同一时间各实验组之间差异显著( $P < 0.05$ )

## 3 讨论

### 3.1 复方中草药“XCY-1”对小丑鱼血清非特异性免疫指标的影响

中草药中含有生物碱、有机酸和多糖等多种免疫活性物质, 能够提高动物机体内细胞的吞噬能力、促进机体代谢、提高抗氧化力从而提高机体免疫力<sup>[31-33]</sup>。

血清中超氧化物歧化酶(SOD)、溶菌酶(LZM)、碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)是具有代表性的非特异性免疫酶类, 通过其数值变化可以确定中草药对小丑鱼免疫力的影响。本研究结果表明, 投喂复方中草药 XCY-1 可使小丑鱼血清中 SOD、LZM、AKP、ACP 活性显著上升, 投喂 7 d 后各中草药添加剂组 4 种酶活力开始上升, 第 21 d 各项指标达到最



高值。这与丁建英等<sup>[34]</sup>用黄芪、金银花等4种中草药添加剂可显著提高克氏原螯虾血清中的T-SOD、ACP和AKP活力;李梅芳等<sup>[35]</sup>研究了投喂中草药可以提高大黄鱼血清中T-SOD和LZM活性;王广军等<sup>[36]</sup>报道了复方中草药添加剂可以提高血清中SOD、AKP、LZM等非特异性免疫酶的活性的结论一致。投喂至28d时各中草药添加剂组4种酶活性并没有持续升高,反而出现下降,这说明复方中草药对小丑鱼的免疫效果不会随着添加剂量的增加而不断增强,过量添加会对机体免疫力产生负向影响<sup>[37]</sup>。这与崔晓翠等<sup>[38]</sup>报道的槟榔、川楝子复方中草药连续投喂至28d时出现免疫疲劳,酶活力开始下降高度一致。从药物添加量分析,添加药物浓度为20g/kg剂量组在各取样点4种酶活力显著高于其他剂量组,效果最佳。

### 3.2 复方中草药“XCY-1”对小丑鱼肝脏非特异性免疫指标的影响

肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)是主要的抗氧化金属酶,是清除ROS的最关键酶,间接反映了机体清除氧自由基的能力,在保护细胞免受氧自由基的毒害中发挥着重要作用<sup>[39]</sup>。谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)是机体内普遍存在的一种催化过氧化氢分解的酶,保护细胞膜结构、功能的完整性<sup>[40-41]</sup>。过氧化氢酶(CAT)是一种酶类清除剂,能清除体内过氧化氢,避免细胞受其毒害<sup>[42]</sup>。SOD、GSH-PX和CAT是通过协同完成抗氧化过程的,对机体的氧化与抗氧化平衡起着重要的作用<sup>[43]</sup>。本研究结果表明,实验期间肝脏中SOD、GSH-PX和CAT活力均呈上升趋势且在21d达到最大值,说明复方中草药添加剂能够提高小丑鱼体内抗氧化能力,有助于增强机体对外界刺激的防御能力。这与刘逊等<sup>[44]</sup>研究复方中草药免疫添加对肝脏中SOD和GSH-PX活力有增强作用;梁拥军等<sup>[45]</sup>研究的复方中草药对宝石鲈肝脏中CAT活力有促进作用的结论一致。连续投喂至28d时,各中草药添加剂组SOD、GSH-PX和CAT活力在肝脏内开始下降,但仍高于未添加组且差异性显著,与血清中非特异性免疫酶活力随着中草药添加剂量的增加出现下降的结果相同,说明复方中草药添加剂对小丑鱼具有双向调节作用,只有适量添加才能提高动物机体免疫力。这与孙学亮等<sup>[46]</sup>报道复方中草药使白点鲑肝脏中T-SOD、CAT活力先升高后下降的结论一致。总抗氧化能力(T-AOC)是衡量对机体体液、细胞、组织酶系统和非酶系统抗氧化能力的综

合指标,其主要作用是分解、清除鱼体代谢过程产生的活性氧自由基<sup>[47]</sup>。实验表明,投喂复方中草药添加剂可以显著提高小丑鱼肝脏中T-AOC活力,这与孙学亮等<sup>[46]</sup>报道复方中草药可以提高白点鲑、亚东鲑肝脏中T-AOC结论一致。但连续投喂至28d时,其活力下降并未持续升高,这与长期投喂高浓度免疫增强剂使机体产生免疫疲劳现象有关<sup>[48-49]</sup>。从药物添加量分析,添加药物浓度为20g/kg剂量组SOD、GSH-PX、CAT和T-AOC活力在各取样点数据显著高于其他剂量组,效果最佳。

### 3.3 复方中草药“XCY-1”对小丑鱼肠道消化酶活性的影响

淀粉酶(AMS)、脂肪酶(LPS)、胰蛋白酶是鱼类体内主要的肠道消化酶,其活性表明鱼体对营养物质的吸收和利用,是反映鱼体生理机能的重要指标<sup>[50]</sup>。本研究结果表明,饲料中添加复方中草药肠道中AMS、LPS和胰蛋白酶活性均高于对照组。第21d,添加药物浓度为20g/kg剂量组上述3种消化酶活性达到最高值。这与孙学亮等<sup>[51]</sup>、黄景军等<sup>[52]</sup>研究发现饲料中添加复方中草药能有效促进肠道消化酶活性一致。第28d,各浓度药物组胰蛋白酶和LPS活性开始下降,10g/kg和20g/kg药物浓度组AMS活性下降。这与叶建生等<sup>[53]</sup>研究的中药制剂在凡纳滨对虾肠道中消化酶活性随着添加量的增多呈现先增后降趋势,且均高于对照组结果一致。从药物添加量分析,添加药物浓度为20g/kg剂量组在各取样点胰蛋白酶和AMS活性高于其他剂量组,添加药物浓度为20g/kg和40g/kg剂量组在各取样点LPS活性最高且差异性不显著。因此,综合肠道消化酶活性指标,该复方中草药适宜添加浓度为20g/kg。

### 3.4 复方中草药“XCY-1”对刺激隐核虫幼虫的体外杀灭效果

刺激隐核虫各个阶段虫体对药物敏感性不同,幼虫最易杀死,包囊则因为包囊壁使药物难以渗透进入虫体而难以杀灭<sup>[54]</sup>。因此在幼虫阶段杀灭虫体,截断其生活史,是防止感染发生最好的方法。焦恺强等<sup>[55]</sup>报道了刺激隐核虫幼虫4h存活率达97%,对大黄鱼感染率高达80.6%;但学明等<sup>[29]</sup>报道了刺激隐核虫4h存活率为100%,4h后开始死亡,此时对卵形鲳鲹等鱼的感染率可达51.9%以上。本研究结果表明,4h内,50mg/L药物浓度即对刺激隐核虫幼虫有一定的杀灭效果,400mg/L药物浓度即可杀灭

全部幼虫，当药物浓度达到 800 mg/L 时，3 h 内幼虫全部死亡，杀灭效果良好。

### 3.5 复方中草药“XCY-1”对小丑鱼鳃丝及成活率的影响

刘振勇等<sup>[56]</sup>报道刺激隐核虫滋养体寄生在鳃丝上，破坏大黄鱼鱼体的呼吸机能导致其窒息死亡，造成的伤害是致命性的。本实验结果显示，各药物组鳃丝上滋养体数量一直呈明显下降趋势，第 6 d 每片鳃丝上仅有 1~2 个甚至未观察到滋养体，各药物组小丑鱼游动、摄食正常，鳃丝颜色、形状未见异常现象。但对照组每片鳃丝上滋养体数量呈快速上升趋势，实验结束时，对照组鳃上滋养体数量增长了 10 多倍。本实验结果表明，复方中草药通过口服吸收经血液流动到全身组织器官中，对虫害起到积极的预防和治疗效果。口服 A 组与口服加药浴 B、C 两组之间鳃上刺激隐核虫滋养体数量没有显著差异，这与崔晓翠<sup>[38]</sup>报道复方中草药治疗大黄鱼刺激隐核虫病，口服中草药加药浴与仅口服中草药鳃丝上虫体数目无显著差异结果一致。

## 4 结论

饲料中添加 20 g/kg 的复方中草药“XCY-1”，投喂时间 14~21 d，可以提升小丑鱼血清、肝脏非特异性免疫指标和肠道消化酶活性，对刺激隐核虫病起到积极的预防和治疗效果。

#### 参考文献:

- [1] GREEN B S. Embryogenesis and oxygen consumption in benthic egg clutches of a tropical clownfish, *Amphiprion melanopus* (Pomacentridae) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 2004, 138(1): 33-38.
- [2] DHANEESH K V, DEVI K N, KUMAR T T A, et al. Breeding, embryonic development and salinity tolerance of Skunk clownfish *Amphiprion akallopisos*[J]. *Journal of King Saud University-Science*, 2012, 24(3): 201-209.
- [3] GORDON A K. The effect of diet and age-at-weaning on growth and survival of clownfish *Amphiprion percula* (Pisces: Pomacentridae)[D]. Grahamstown: Rhodes University, 1999.
- [4] MARCIONETTI A, ROSSIER V, BERTRAND J A M, et al. First draft genome of an iconic clownfish species (*Amphiprion frenatus*)[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2018, 18(5): 1092-1101.
- [5] DIGGLES B K, ADLARD R D. Taxonomic affinities of *Cryptocaryon irritans* and *Ichthyophthirius multifiliis* inferred from ribosomal RNA sequence data[J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1995, 22(1): 39-43.
- [6] WRIGHT A D G, COLORNI A. Taxonomic re-assignment of *Cryptocaryon irritans*, a marine fish parasite[J]. *European Journal of Protistology*, 2002, 37(4): 375-378.
- [7] COLORNI A, BURGESS P. *Cryptocaryon irritans* Brown 1951, the cause of ‘white spot disease’ in marine fish: an update[J]. *Aquarium Science and Conservation*, 1997, 1(4): 217-238.
- [8] COLORNII A. Aspects of the biology of *Cryptocaryon irritans*, and hyposalinity as a control measure in cultured gilthead sea bream *Sparus aurata*[J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1985, 1(1): 19-22.
- [9] CHEUNG P J, NIGRELLI R F, RUGGIERI G D. Studies on cryptocaryoniasis in marine fish: effect of temperature and salinity on the reproductive cycle of *Cryptocaryon irritans* brown, 1951[J]. *Journal of Fish Diseases*, 1979, 2(2): 93-97.
- [10] COLORNI A, DIAMANT A. Ultrastructural featural of *Cryptocaryon irritans*, a ciliate parasite of marine fish[J]. *European Journal of Protistology*, 1993, 29(4): 425-434.
- [11] 苏跃中. 福建省主要养殖区海水网箱养殖鱼类刺激隐核虫病的调查及防控对策[J]. *水产科技情报*, 2009, 36(1): 4-7.  
SU Yuezhong. Investigation and control strategy of *Cryptocaryon irritans* by marine cage fish in main aquaculture areas of Fujian Province[J]. *Aquatic Science and Technology Information*, 2009, 36(1): 4-7.
- [12] 侯秀琼. 海水网箱养殖鱼类刺激隐核虫病的诊断及防治[J]. *科学养鱼*, 2012(2): 59-60.  
HOU Xiuqiong. Diagnosis and prevention of *Cryptocaryon irritans* in fish cultured in seawater cages[J]. *Science to Breed Fish*, 2012(2): 59-60.
- [13] 梁前才, 车南吉, 李民, 等. 2009 年水东湾网箱鱼类刺激隐核虫病调查初报[J]. *海洋与渔业*, 2010(8): 53-54.  
LIANG Qiancai, CHE Nanji, LI Min, et al. Preliminary report on the investigation of *Cryptocaryon irritans* in cage fish in Shuidong Bay in 2009[J]. *Oceans and Fisheries*, 2010(8): 53-54.
- [14] 张世义, 伍玉明. 观赏鱼[J]. *生物学通报*, 2010, 45(4): 10-12.  
ZHANG Shiyi, WU Yuming. Ornamental fish[J]. *Biology Bulletin*, 2010, 45(4): 10-12.
- [15] COLORNI A. Aspects of the biology of *Cryptocaryon irritans*, and hyposalinity as a control measure in cultured gilthead sea bream *Sparus aurata*[J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1985, 1: 19-22.
- [16] 郑伟, 闻达. 海水观赏鱼常见疾病的防治方法[J]. *科学养鱼*, 2011(9): 48-49.  
ZHENG Wei, WEN Da. Prevention and control of common diseases of Marine ornamental fish[J]. *Science*



- to Breed Fish, 2011(9): 48-49.
- [17] 卓琦. 海水观赏鱼的刺激隐核虫病[J]. 中国观赏鱼, 2001(1): 29-31.  
ZHUO Qi. Cryptocaryon irritans of marine ornamental fish[J]. Chinese Ornamental Fish, 2001(1): 29-31.
- [18] WILKIE D W, GORDIN H. Outbreak of cryptocaryoniasis in marine aquaria at Scripps Institution of Oceanography[J]. California Fish and Game, 1969, 55: 227-236.
- [19] HIRAZAWA N, GOTO T, SHIRASU K. Killing effect of various treatments on the monogenean *Heterobothrium okamotoi* eggs and oncomiracidia and the ciliate *Cryptocaryon irritans* cysts and theronts[J]. Aquaculture, 2003, 223(1/4): 1-13.
- [20] COLORNI A. Biology of *Cryptocaryon irritans* and strategies for its control[J]. Aquaculture, 1987, 67: 236-237.
- [21] GRATZEK J B, GILBERT J P, LOHR A L, et al. Ultraviolet light control of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet in a closed fish culture recirculation system[J]. Journal of Fish Diseases, 1983, 6(2): 145-153.
- [22] JIANG B, LI Y W, ABDULLAHI A Y, et al. Placemat and rotational culturing: a novel method to control *Cryptocaryon irritans* infection by removing tomonts[J]. Aquaculture, 2016, 459: 84-88.
- [23] HERWIG N. Notes on the treatment of Cryptocaryon[J]. Drum and Croaker, 1978, 18(1): 6-12.
- [24] LOM J, DYKOVA I. Protozoan parasites of fish[J]. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, 1992, 26: 258-259.
- [25] PIRONET F N, JONES J B. Treatments for ectoparasites and diseases in captive Western Australian dhufish[J]. Aquaculture International, 2008, 8(4): 349-361.
- [26] 郑晓叶, 刘顺, 周旻曦, 等. 几种理化因子对刺激隐核虫包囊及幼虫活力的影响[J]. 宁波大学学报(理工版), 2015, 28(1): 15-20.  
ZHENG Xiaoye, LIU Shun, ZHOU Minxi, et al. Influence of environmental factors and chemotherapeutics on *Cryptocaryon irritans* tomont and theront[J]. Journal of Ningbo University(NSEE), 2015, 28(1): 15-20.
- [27] KAWANO F, HIRAZAWA N, GRAVNINGEN K, et al. Antiparasitic effect of dietary Romet 30(SDMX-OMP) against ciliate *Cryptocaryon irritans* infection in the red sea bream *Pagrus major* and tiger puffer *Takifugu rubripes*[J]. Aquaculture, 2012, 344/349: 35-39.
- [28] YOSHINAGA T, IM H J, NISHIDA S, et al. In vitro and in vivo efficacies of ionophores against *Cryptocaryon irritans*[J]. Aquaculture, 2011, 321(3/4): 167-172.
- [29] 但学明. 刺激隐核虫(*Cryptocaryon irritans*)的传代、保存及刺激隐核虫病的防治研究[D]. 广州: 暨南大学, 2006.  
DAN Xueming. The propagation, preservation of *Cryptocaryon irritans* brown 1951, and control of cryptocaryoniasis[D]. Guangzhou: Jinan University, 2006.
- [30] 徐润林, 江静波, 陈毕生. 刺激隐核虫生活史的光镜观察[J]. 海洋科学, 1992, 16(3): 42-44.  
XU Runlin, JIANG Jingbo, CHEN Bisheng. Light microscopy observation on the life cycle of the *Cryptocaryon irritans* [J]. Marine Sciences, 1992, 16(3): 42-44.
- [31] 张耀武, 郑建武, 李文辉, 等. 复方中草药制剂对黄颡鱼生长和非特异性免疫功能的影响[J]. 水产科学, 2010, 29(4): 225-228.  
ZHANG Yaowu, ZHEGN Jianwu, LI Wenhui, et al. Effects of Chinese herbal medicines on growth and nonspecific immunity in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Fisheries Science, 2010, 29(4): 225-228.
- [32] AWAD E, AWAAD A. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 67: 40-54.
- [33] ARDÓL, YIN G J, XU P, 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(1/4): 26-33.
- [34] 丁建英, 邵菁, 徐建荣, 等. 复方中草药饲料添加剂对克氏原螯虾非特异性免疫功能的影响[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(31): 15266-15267, 15270.  
DING Jianying, SHAO Jing, XU Jianrong, et al. Effect of compound feed additive of Chinese herbal medicine on non-specific immunity function of *Procambarus clarkii*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(31): 15266-15267, 15270.
- [35] 李梅芳, 张文杰, 毛芝娟, 等. 投喂中草药对大黄鱼几种免疫酶活性的影响[J]. 水产科学, 2014, 35(11): 718-722.  
LI Meifang, ZHANG Wenjie, MAO Zhijuan, et al. Influence of oral administration of Chinese herbal medicines on activity of several immunity related enzymes from large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*[J]. Fisheries Science, 2014, 35(11): 718-722.
- [36] 王广军, 谢骏, 胡隐昌, 等. 中草药添加剂对日本鳗鲡生长和非特异性免疫效应的研究[J]. 淡水渔业, 2008, 38(6): 38-41.  
WANG Guangjun, XIE Jun, HU Yinchang, et al. Study of Chinese herbal additives on the growth and non-specific immune response of Japanese eel, *Anguilla japonica*[J]. Freshwater Fisheries, 2008, 38(6): 38-41.
- [37] 吕耀平, 程永旭, 吴旭干, 等. 紫苏子提取物对异育银鲫存活、生长以及体生化组成的影响[J]. 水生生物学报, 2008(2): 258-266.  
LV Yaoping, CHENG Yongxu, WU Xugan, et al. Effects of extractives of perilla seed on survival, growth and body biochemical composition of *Carassius Auratus Gibelio*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008(2): 258-266.
- [38] 崔晓翠, 王印庚, 陈霞, 等. 槟榔、川楝子复方中草

- 药对大黄鱼 4 种酶活性的影响及对刺激隐核虫的杀灭效果分析[J]. 中国水产科学, 2017, 24(2): 362-373.
- CUI Xiaocui, WANG Yingeng, CHEN Xia, et al. Effect of a Chinese herbal compound on non-specific immune activities and extermination of parasite *Cryptocaryon irritans* in *Larimichthys crocea*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2017, 24(2): 362-373.
- [39] MCCORD J M. The evolution of free radicals and oxidative stress[J]. Medicine, 2000, 108(8): 652-659.
- [40] INGRAHAM L L, MEYER D L. Biochemistry of dioxygen[M]. New York: Plenum Press, 1985: 3-27.
- [41] PROHASKA J R, GUTSCH D E. Development of glutathione peroxidase activity during dietary and genetic copper deficiency [J]. Biological Trace Element Research, 1983(5): 35-45.
- [42] 孙学亮, 郭永军, 季延滨, 等. 3 种复方中草药对中华绒螯蟹生长和部分抗氧化指标的影响[J]. 经济动物学报, 2015(2): 86-94.
- SUN Xueliang, GUO Yongjun, JI Yanbin, et al. Effects of Three Kinds of Compound Chinese Herbal on growth and antioxidative indicators of *Eriocheir sinensis*[J]. Journal of Economic Animal, 2015(2): 86-94.
- [43] AUST S D, SVINGEN B A. The role of Iron in enzymatic lipid peroxidation[J]. Free Radicals in Biology, 1982: 1-28.
- [44] 刘逊, 王荻, 卢彤岩, 等. 复方中草药免疫添加剂对史氏鲟生长性能和抗氧化力的影响[J]. 中国农学通报, 2012, 28(14): 130-134.
- LIU Xun, WANG Di, LU Tongyan, et al. The effects of Chinese Herbal Compound on growth and antioxidant defenses in *Amur Sturgeon* as immune additive[J]. Chinese Agriculture Science Bulletin, 2012, 28(14): 130-134.
- [45] 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 Yongjun, SUN Xiangjun, SUN Yansheng, 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.
- [46] 孙学亮, 杨树元, 王耀浒, 等. 复方中草药对山女鳟、白点鲑和亚东鲑肝脏抗氧化及非特异性免疫指标的影响[J]. 饲料研究, 2019, 42(3): 16-20.
- SUN Xueliang, YANG Shuyuan, WANG Yaohu, et al. Effects of Chinese herbal medicine compounds on antioxidant indices and non-specific immunity of *Oncorhynchus masou masou*, *Salvelinus leucomaenis* *pipiuvius* and *Salmo truttafariorio*[J]. Feed Research, 2019, 42(3): 16-20.
- [47] 崔惟东, 冷向军, 李小勤, 等. 虾青素和角黄素对虹鳟肌肉着色和肝脏总抗氧化能力的影响[J]. 水产学报, 2009, 33(6): 987-995.
- CUI Weidong, LENG Xiangjun, LI Xiaoqin, et al. Effects of astaxanthin and canthaxanthin on pigmentation of muscle and total antioxidant capacity of liver in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2009, 33(6): 987-995.
- [48] YOSHIDA T, KRUGER R, INGLIS V. Augmentation of non-specific protection in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), by the long-term oral administration of immunostimulants[J]. Journal of Fish Diseases, 1995, 18: 195-198.
- [49] GANNAM A L, SCHROCK R M. Immunostimulants in fish diets[J]. Journal of Applied Aquaculture, 1999, 9(4): 53-70.
- [50] CAHU C, RONNESTAN I, GRANGIER V, et al. Expression and activities of pancreatic enzymes in developing sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) in relation to intact and hydrolyzed dietary protein; involvement of cholecystokinin[J]. Aquaculture, 2004, 238(1): 295-308.
- [51] 孙学亮, 杨树元, 陈奇书, 等. 复方中草药对白点鲑和亚东鲑抗氧化、非特异性免疫及消化酶指标的影响[J]. 水产学杂志, 2020, 33(3): 7-12.
- SUN Xueliang, YANG Shuyuan, CHEN Qishu, et al. Effects of Compound Chinese Herbal Medicine on antioxidant, non-specific immunity and digestive enzyme activity in *Salvelinus phuvius* and *Salmo trutta fario*[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2020, 33(3): 7-12.
- [52] 黄景军, 何琪, 赵会宏, 等. 饲料中添加复方中草药对鞍带石斑鱼生长与消化酶活性的影响[J]. 饲料工业, 2021, 42(4): 53-59.
- HUANG Jingjun, HE Qi, ZHAO Huihong, et al. Effect of compound Chinese herbal on growth and digestive enzyme activities of *Giant Grouper (E. Lanceolatus)* [J]. Siliao Gongye, 2021, 42(4): 53-59.
- [53] 叶建生, 马甦, 王兴强, 等. 中草药制剂对凡纳滨对虾生长和消化酶活性的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2007, 37(S1): 151-154, 150.
- YE Jiansheng, MA Shen, WANG Xingqiang, et al. Effects of dietary traditional Chinese medicines on the growth and activities of digestive enzymes of *Litopenaeus vannamei*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2007, 37(S1): 151-154, 150.
- [54] 陈达丽, 张其中. 杀灭离体小瓜虫的药物实验[J]. 淡水渔业, 2005, 35(1): 54-55.
- CHEN Dali, ZHANG Qizhong. Drug experiment for killing the isolated *Ichthyophthirius multifiliis*[J]. Freshwater Fisheries, 2005, 35(1): 54-55.
- [55] 焦恺强, 王印庚, 荣小军, 等. 刺激隐核虫对大黄鱼致病力及中草药抑制其世代繁殖的研究[J]. 水产学报, 2019, 43(5): 1326-1337.
- JIAO Kaiqiang, WANG Yingeng, RONG Xiaojun, et al. Pathogenicity of *Cryptocaryon irritans* to *Larimichthys*

*crocea* and Chinese herbal inhibition on the parasitic generation reproduction[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(5): 1326-1337.

[56] 刘振勇, 谢友佳, 林小金, 等. 福建宁德海水鱼类刺激隐核虫病流行病学的研究[J]. *福建水产*, 2014, 36(5):

351-358.

LIU Zhenyong, XIE Youquan, LIN Xiaojin, et al. Research on the Cryptocaryoniosis of marine fishes from the perspective of epidemiology in Ningde of Fujian[J]. *Journal of Fujian Fisheries*, 2014, 36(5): 351-358.

## Effects of a Chinese herbal compound on nonspecific immunity, digestive enzyme activities, and extermination of the parasite *Cryptocaryon irritans* from *Amphiprion frenatus*

HE Libin, YANG Qiuhua, LI Huiyao, LUO Huiyu, ZHENG Leyun  
(Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361013, China)

**Received:** Nov. 9, 2022

**Key words:** *Amphiprion frenatus*; *Cryptocaryon irritans*; Chinese herbal compound; nonspecific immunity; digestive enzyme

**Abstract:** “White spot disease” caused by *Cryptocaryon irritans* is harmful to cultured ornamental fish in a tank and also to marine ornamental fish living in large aquaria. It is one of the most serious diseases in marine ornamental fish farming. This study explored the effects of adding different doses of the compound Chinese herbal medicine XCY-1 to the basic feed on changes in nonspecific immune indicators in the serum and liver as well as digestive enzyme activities in the intestine of *Amphiprion frenatus*. We also investigated the effects of XCY-1 for treating cryptocarioniasis. The results showed that the activities of SOD, LZM, AKP, ACP, GSH-Px, CAT, and T-AOC of clownfish increased first and then decreased after feeding the compound Chinese herbal medicine XCY-1. The indices reached their highest values on day 21. The immune ability of clownfish improved significantly in the 20 g/kg dose group. The activities of AMS, LPS, and trypsin in the intestinal tract were significantly higher than those in the control group. The activities of trypsin and AMS in the intestinal tract increased significantly in the 20 g/kg dose group, and the activities of LPS in the intestinal tract increased significantly in the 20 and 40 g/kg dose groups. The 50 mg/L XCY-1 dose had a killing effect on *Cryptocaryon irritans* larvae within 4 h, and all larvae were killed by 400 mg/L XCY-1. All larvae in the 800 mg/L dose group died within 3 h. A therapeutic experiment was performed in which fish were assigned randomly to groups A–C and a control. Fish in group A were fed 20 g/kg XCY-1 in the feed. Fish in group B were fed 20 g/kg XCY-1 in the feed and dipped in a 50 mg/L XCY-1 bath. Fish in group C were fed 20 g/kg XCY-1 in the feed and dipped in a 100 mg/L XCY-1 bath. The results showed that the survival rates of groups A, B, and C and the control group were 51.1%, 53.3%, 57.7%, and 0 on day 6. Only 0–2 trophonts were observed on each gill in groups A, B, and C, whereas the number of trophonts in the control group increased significantly. In conclusion, 20 g/kg of the compound Chinese herbal medicine XCY-1 fed for 14–21 days improved serum and liver nonspecific immune indices and intestinal digestive enzyme activities in *Amphiprion frenatus*, XCY-1 also had a positive preventive and therapeutic effect on cryptocarioniasis.

(本文编辑: 杨 悦)