

网络出版时间:2012-12-21 17:28
网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20121221.1728.011.html>

153 种中草药对罗非鱼无乳链球菌和海豚链球菌的抑制活性研究

吴颖瑞¹, 龚庆芳¹, 方 宏¹, 梁万文², 陈 明², 袁耀彬^{1,3}, 何瑞杰¹

(1 中国科学院 广西植物研究所 广西植物功能物质研究与利用重点实验室, 广西 桂林 541006;
2 广西水产研究所, 广西 南宁 530021; 3 广西师范大学 生命科学学院, 广西 桂林 541000)

【摘 要】【目的】研究中草药对罗非鱼无乳链球菌和海豚链球菌的抑菌活性, 为生产中罗非鱼链球菌病害的防治提供参考。【方法】采用琼脂扩散法, 测定 153 种中草药乙醇提取物对罗非鱼(*Tilapia* sp.) 无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*) 和海豚链球菌(*S. iniae*) 的体外抑菌作用, 并采用二倍稀释法测定中草药乙醇提取物的最小抑菌浓度(MIC) 和最小杀菌浓度(MBC)。【结果】153 种中草药中, 博落回(*Macleaya cordata*)、十大功劳(*Mahonia fortunei*)、三颗针(*Berberis* spp.)、紫草(*Lithospermum erythrorhizon*)、田七须(*Panax notoginseng*)、补骨脂(*Psoralea corylifolia*)、田基黄(*Hypericum japonicum*) 和五倍子(*Galla chinensis*) 提取物对无乳链球菌表现出了明显的抑制活性, 其中博落回的抑菌效果最显著, 抑菌圈直径为(25.1±0.6) mm; 博落回、千斤拔(*Flemingia philippinensis*)、田七须、甘草(*Bidens bipinnata*)、田基黄、败酱草(*Patrinia villosa*)、紫草、苦参(*Sophora flavescens*)、补骨脂、北五味子(*Schisandra chinensis*)、五倍子、鬼针草(*Bidens bipinnata*)、虎刺(*Damnanthus indicus*)、三颗针、翠云草(*B. bipinnata*)、羌活(*Notopterygium incisum* Ting ex)、香薷(*Elsholtzia patrinii* Garcke) 对海豚链球菌具有明显的抑菌活性, 其中博落回的抑菌作用最强, 抑菌圈直径为(24.3±1.1) mm。对抑菌活性较强的中草药的 MIC 和 MBC 进行了测定, 结果表明, 三颗针和博落回提取物的抑菌和杀菌效果均较好。三颗针、博落回对无乳链球菌和海豚链球菌的 MIC 和 MBC 分别为 0.31, 0.63; 0.63, 1.25 和 1.25, 2.50; 0.94, 1.88 mg/mL。【结论】博落回、紫草、田基黄、补骨脂、三颗针、田七须和五倍子对无乳链球菌和海豚链球菌均具有较好的抑菌效果。

【关键词】 中草药; 无乳链球菌; 海豚链球菌; 抑菌活性

【中图分类号】 S941.42 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-9387(2013)01-0025-08

The antimicrobial activities of 153 kinds of Chinese herbal medicines against the pathogen of *Streptococcus* from tilapia *in vitro*

WU Ying-rui¹, GONG Qing-fang¹, FANG Hong¹, LIANG Wan-wen²,
CHEN Ming², YUAN Yao-bin^{1,3}, HE Rui-jie¹

(1 Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi 541006, China; 2 Guangxi Fishery Research Institute, Nanning, Guangxi 530021, China;
3 College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi 541000, China)

Abstract: 【Objective】The antimicrobial effects of Chinese herbal medicines against the pathogen of *Streptococcus* from tilapia *in vitro* were studied. 【Method】The antimicrobial effects of 153 Chinese herbal medicines were screened by disc agar diffusion. Double-dilution method was used to detect the minimal inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration of some herb medicines which had sig-

〔收稿日期〕 2012-05-15
〔基金项目〕 广西自然科学基金项目(桂科基 0832021, 桂科攻 1123006-4); 中国科学院广西植物研究所基本业务费项目(桂植业 10008, 11009)
〔作者简介〕 吴颖瑞(1966—), 男, 广西平南人, 副研究员, 博士, 主要从事植物活性成分应用基础研究。E-mail: wyrui@yahoo.com

nificant inhibitory effects to streptococcus, pathogens from tilapia streptococcus, *Streptococcus iniae* and *S. agalactiae*. 【Result】 The results showed that 8 kinds of Chinese herbs including *Macleaya cordata*, *Mahonia fortunei*, *Lithospermum erythrorhizon*, *Berberis* spp., *Hypericum japonicum*, *Panax notoginseng*, *Psoralea corylifolia*, and *Galla chinensis* could effectively inhibit the growth of *S. iniae*, their minimal inhibitory concentrations and the minimal bactericidal concentrations were among 0.31–20.00 mg/mL and 0.63–20.00 mg/mL, respectively. *Macleaya cordata* had the best inhibitory effects with the diameter of inhibition zone (DIZ) of (24.3 ± 1.1) mm. *Macleaya cordata*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Lithospermum erythrorhizon*, *Hypericum japonicum*, *Panax notoginseng*, *Flemingia philippinensis*, *Patrinia villosa*, *Sophora flavescens*, *Psoralea corylifolia*, *Schisandra chinensis*, *Bidens bipinnata*, *Selaginella uncinata*, *Berberis* spp., and *Galla chinensis* inhibited the growth of *S. agalactiae*, their minimal inhibitory concentrations and the minimal bactericidal concentrations were 1.25–20.00 mg/mL and 2.50–40.00 mg/mL, respectively. *Macleaya cordata* had the strongest inhibitory effects with the DIZ of (24.3 ± 1.1) mm. *Berberis* spp. and *Macleaya cordata* were the two best medicines against *Streptococcus iniae* and *S. agalactiae*. The MIC and MBC of *Berberis* spp. were 0.31, 0.63 mg/mL (*Streptococcus iniae*) and 1.25, 2.50 mg/mL (*S. agalactiae*) while that of *Macleaya cordata* were 0.63, 1.25 mg/mL (*Streptococcus iniae*) and 0.94, 1.88 mg/mL (*S. agalactiae*). 【Conclusion】 The screening results confirmed the possible use of Chinese herbal medicines as a source of antimicrobial alternatives to control the streptococcus diseases in tilapia production.

Key words: Chinese herbal medicines; *Streptococcus agalactiae*; *Streptococcus iniae*; antimicrobial activities

中国是世界上最大的罗非鱼生产国,产量、出口量和出口额均居世界首位,罗非鱼为国内最具国际竞争力的淡水养殖品种,也是最具产业化发展条件的品种,已成为中国南方地区的支柱性产业,在国内有着较强的发展优势。然而,由无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)、海豚链球菌(*S. iniae*)引起的罗非鱼病害,在夏、秋季易爆发,该病传染性强,幼鱼与成鱼的发病率达 10%~30%,死亡率可达 25%~80%甚至更高^[1],给罗非鱼养殖业造成了极大的经济损失,而且还有不断加剧的趋势。

目前在罗非鱼养殖生产上,人们主要是通过使用抗生素类的化学药物对链球菌引起的病害进行防治,但大量、长期地使用广谱抗生素、化学药物和水体消毒剂,对生态环境及公众健康造成的负面影响受到了人们的关注。近年来,水产疫苗虽然取得了一定的进展,但受疫苗免疫途径、水体环境、病原变异、鱼类自身特点等因素的制约,其在生产上的推广使用尚需时日。因此,迫切需要寻找一种安全、高效的药物来防治罗非鱼链球菌病害。

植物的次生代谢产物丰富,是作用于多种靶点的化合物组合库,在治疗人类和动物疾病方面有悠久的历史。目前,在鱼病防治方面,越来越多的学者关注并致力于用中草药防治常见鱼类致病菌的研究,并发现中草药具有不同程度的抑菌作用^[2-5],植

物药将可能替代抗生素和化学药物成为防治链球菌病害的有效途径之一,但关于中草药提取物对链球菌抑菌作用的研究报道尚不多见^[4,6]。本试验选取 153 种具有广谱抗菌活性的中草药,研究其提取物对无乳链球菌和海豚链球菌的体外抑菌作用,以期对链球菌病害的防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 中草药 采集《中华人民共和国药典》、民间医生推荐的具有抗菌、清热解毒特性的中草药 153 种用于试验,供试中草药由药工莫高强鉴定,药材标本现保存于广西植物研究所广西植物功能物质研究与利用重点实验室。

1.1.2 供试菌株 无乳链球菌、海豚链球菌,由广西水产研究所鱼病研究室从广西与海南罗非鱼产区的患病罗非鱼脑部分离、鉴定并保存。

1.1.3 培养基 TSA 培养基:胰蛋白胨 16 g/L,大豆蛋白胨 5.0 g/L,NaCl 5.0 g/L,琼脂 20 g/L,pH 7.0~7.2。TSB 培养基:TSA 不加琼脂。

1.2 方法

1.2.1 中草药提取物的制备 中草药样品采回后自然晾干或阴干,粉碎后,用体积分数 95%的乙醇(用量为样品体积的 3 倍)回流提取 3 次,每次 1.5

h,回收溶剂得到浸膏状供试样品,在-20℃条件下保存备用。以V(乙醇):V(吐温):V(蒸馏水)=1:1:8的混合溶剂,配制1 g/mL(以生药计)供试药液,经孔径0.22 μm 硝酸纤维素滤膜过滤后,备用。

1.2.2 病原菌悬液的制备 将无乳链球菌和海豚链球菌菌株,在TSA平板上划线培养24 h,用TSB洗下,在28℃条件下,摇床振荡培养20 h,稀释为5×10⁸ cfu/mL的菌悬液,备用。

1.2.3 抑菌活性的测定 采用琼脂扩散法,吸取0.1 mL菌悬液,置于TSA培养基并涂布均匀;取无菌滤纸片(直径为6 mm),吸取药液,吹干溶剂后,贴在培养基表面,每个样品平行3组,以吸取无菌水的滤纸片为空白对照。置于28℃培养箱内培养24 h后,用游标卡尺精确测量抑菌圈直径。以抑菌圈直径来表示抑菌活性,抑菌圈直径≥10 mm表示抑菌活性较强,抑菌圈直径<10 mm表示抑菌活性较弱。

1.2.4 最小抑菌浓度(MIC)的测定 根据中草药提取物体外抑菌活性的测定结果,选取抑菌效果明显的药物,用二倍稀释法测定其MIC。分别设中草药的最高质量浓度为60.00,70.00,80.00 mg/mL 3个水平,用TSB液体培养基以二倍稀释法稀释10管,分别加入0.1 mL浓度近似为1×10⁸ cfu/mL的菌液,混匀,以加菌液的第11号管为阳性对照,只加入V(乙醇):V(吐温):V(蒸馏水)=1:1:8混合溶剂的第12号管为试剂对照,不加菌液只加TSB的第13号管为阴性对照。置28℃恒温培养箱中培养36 h,肉眼观察,无菌生长、不浑浊的试管中的最低药物浓度即为MIC^[7],每个浓度重复3次。

1.2.5 最小杀菌浓度(MBC)的测定 取各种药物的MIC和浓度高于MIC的各个梯度试管中的培养

物0.1 mL置于TSA琼脂平板上,28℃培养36 h后观察有无菌落形成,无菌落形成试管的最低药物浓度即为该种药物对病原菌的MBC^[7]。

1.3 数据处理

数据均用“平均值±标准误(X±SE)”表示。

2 结果与分析

2.1 中草药提取物的体外抑菌活性测定结果

153种中草药对无乳链球菌抑菌活性的测定结果见表1。表1显示,8种中草药提取物对无乳链球菌有明显的抑制活性,其抑菌活性由强至弱顺序为博落回>十大功劳>三颗针、紫草>田基黄、田七须、补骨脂>五倍子;麻黄、两面针、半边莲、丹参、积雪草、侧柏叶、羌活、北五味子、苦参、白芍、葫芦茶、制黄精、鬼针草、大血藤等14种中草药提取物呈微弱的抑菌活性;其余中草药提取物对无乳链球菌无抑菌活性。

153种中草药对海豚链球菌的抑菌活性见表1。表1显示,17种中草药提取物对海豚链球菌有明显抑制作用,其抑菌活性由强至弱顺序为博落回>田七须、田基黄、甘草、千斤拔>紫草、败酱草、苦参>补骨脂>北五味子、鬼针草>虎刺、五倍子、翠云草、三颗针>羌活>香薷;杜仲、仙鹤草、刺五加、茵陈、青蒿、车前草、紫苏、旱莲草、黄连、十大功劳、蒲公英、苦绞股蓝、射干、白花蛇舌草、锦灯笼、牛蒡子等16种中草药提取物表现出微弱的抑菌活性;其余中草药提取物对海豚链球菌未表现出抑菌活性。

博落回、紫草、田基黄、补骨脂、三颗针、田七须、五倍子对无乳链球菌和海豚链球菌均表现出一定的抑菌活性,但同一药物对无乳链球菌和海豚链球菌的抑制活性也有一定差异。

表 1 153 种中草药提取物对无乳链球菌和海豚链球菌的抑菌活性

Table 1 Inhibitory effects of extracts of 153 Chinese herbal medicines on pathogen of *S. agalactiae* and *S. iniae*

中草药 Chinese herbal medicine	药用部位 Medicinal part for antibacterial sceening	抑菌圈直径/mm Diameter of inhibition zone	
		无乳链球菌 <i>S. agalactiae</i>	海豚链球菌 <i>S. iniae</i>
博落回 <i>Macleaya cordata</i> (Willd.) R. Br.	全草 Whole plant	25.1±0.6	24.3±1.1
十大功劳 <i>Mahonia fortunei</i> (Lindl.) Fedde	全株 Whole plant	20.2±2.3	+
三颗针 <i>Berberis</i> spp.	枝、叶 Bbranches and leaves	14.4±0.9	12.1±1.4
紫草 <i>Lithospermum erythrorhizon</i> Sieb. et Zucc.	根茎 Rizhom	14.1±0.9	14.8±1.1
田七须 <i>Panax notoginseng</i> (Burk.) F. H. Chen	毛细根 Tiny root	13.3±1.1	15.8±1.7
补骨脂 <i>Psoralea corylifolia</i> L.	种子 Seed	12.8±0.7	14.4±1.3
田基黄 <i>Hypericum japonicum</i> Thunb	全草 Whole plant	12.7±1.1	15.7±1.5
五倍子 <i>Galla chinensis</i>	虫瘿 Galla	12.1±1.3	12.3±0.8
千斤拔 <i>Flemingia philippinensis</i> Merr. et Rolfe	根 Root	—	16.3±0.8
甘草 <i>Bidens bipinnata</i> L.	根 Root	—	15.9±0.6
败酱草 <i>Patrinia villosa</i> Juss	全草 Whole plant	—	15.2±1.3

续表 1 Continued table 1

中草药 Chinese herbal medicine	药用部位 Medicinal part for antibacterial sceening	抑菌圈直径/mm Diameter of inhibition zone	
		无乳链球菌 <i>S. agalactiae</i>	海豚链球菌 <i>S. iniae</i>
苦参 <i>Sophora flavescens</i> Ait.	根 Root	+	14.6±0.7
北五味子 <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill	果实 Fruit	+	13.2±1.5
鬼针草 <i>Bidens bipinnata</i> L.	全草 Whole plant	+	12.9±0.8
虎刺 <i>Damnacanthus indicus</i> C. F. Gaertn.	根 Root	—	12.3±1.4
翠云草 <i>Selaginella uncinata</i> (Desv.) Spring	全草 Whole plant	—	11.8±1.5
羌活 <i>Notopterygium incisum</i> Ting ex H. T. Chang	根茎 Rizhom	+	10.9±0.7
香薷 <i>Elsholtzia patrinii</i> Garcke	全草 Whole plant	—	9.8±1.2
麻黄 <i>Ephedra sinica</i> Stapf	茎 Stem	+	—
葫芦茶 <i>Desmodium triquetrum</i> (L.) DC.	全株 Whole plant	+	—
制黄精 <i>Polygonatum sibiricum</i> Red	根茎 Rizhom	+	—
大血藤 <i>Sargentodoxa cuneata</i> Rehd. et Wils.	茎 Stem	+	—
白芍 <i>Paeoni lactiflora</i> Pll.	根 Root	+	—
侧柏叶 <i>Platycladus orientalis</i> (L.) Franco	枝、叶 Branches and leaves	+	—
两面针 <i>Zanthoxylum nitidum</i> (Roxb.) DC	全草 Whole plant	+	—
半边莲 <i>Lobelia chinensis</i> Lour	全草 Whole plant	+	—
积雪草 <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban	全草 Whole plant	+	—
丹参 <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bge	根茎 Rizhom	+	—
射干 <i>Belamcanda chinensis</i> (L.) DC.	根茎 Rizhom	—	+
白花蛇舌草 <i>Hedyotis diffusa</i> (Willd.) Roxb	全草 Whole plant	—	+
锦灯笼 <i>Physalis alkekengi</i> L. var. franchetii (Mast.) Makino	果实 Fruit	—	+
牛蒡子 <i>Arctium lappa</i> L.	果实 Fruit	—	+
苦绞股蓝 <i>Gynostemma pentaphyllum</i> (Thunb.) Mak.	全草 Whole plant	—	+
蒲公英 <i>Taraxacum Mongolicum</i> Hand. Mazz	全草 Whole plant	—	+
旱莲草 <i>Eclipta prostrata</i> L.	茎叶 Stems and leaves	—	+
黄连 <i>Coptis chinensis</i> Franch	根茎 Rizhom	—	+
车前草 <i>Plantago asiatica</i> L.	全草 Whole plant	—	+
紫苏 <i>Perilla frutescens</i> (L.) Britt.	全草 Whole plant	—	+
茵陈 <i>Artemisia capillaris</i> Thunb	全草 Whole plant	—	+
青蒿 <i>Artemisia annua</i> L.	茎、叶 Stems and leaves	—	+
刺五加 <i>Acanthopanax senticosus</i> (Rupr. et Maxim.) Harms	茎、叶 Stems and leaves	—	+
仙鹤草 <i>Agrimonia pilosa</i> Ledeb.	全草 Whole plant	—	+
杜仲 <i>Eucommia ulmoides</i> Oliv.	树皮 Bark	—	+
龙胆草 <i>Gentiana manshurica</i> Kitag	根茎 Rizhom	—	—
何首乌 <i>Fallopia multiflora</i> (Thunb.) Harald	块根 Root	—	—
白蔹 <i>Ampelopsis japonica</i> (Thunb.) Makino	块根 Root	—	—
白英 <i>Solanum lyratum</i> Thunb	全草 Whole plant	—	—
铁包金 <i>Berchemia lineata</i> (L.) DC	茎、藤、根 Stem and vine, root	—	—
罗布麻 <i>Apocynum venetum</i> L.	叶 Leaf	—	—
千里光 <i>Senecio scandens</i> Buch.-Ham. ex D. Don	枝、叶 Branches and leaves	—	—
木鳖子 <i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng	种子 Seed	—	—
金银花 <i>Lonicera japonica</i> Thunb.	花 Flower	—	—
银花藤 <i>Lonicera japonica</i> Thunb.	藤茎 Cane	—	—
独活 <i>Angelica biserrata</i> (Shan et Yuan) Yuan et Shan	根茎 Rizhom	—	—
山豆根 <i>Sophora tonkinensis</i> Radix et Rhizoma	根 Root	—	—
大蒜 <i>Allium sativum</i> L. (Garlic)	鳞茎 Bulbs	—	—
虎杖 <i>Reynoutria japonica</i> Houtt	根茎 Rizhom	—	—
溪黄草 <i>Rabdosia serra</i> (Maxim.) Hara	全草 Whole plant	—	—
鸡眼草 <i>Acalypha brachystachya</i> Hornem	全草 Whole plant	—	—
狗肝菜 <i>Dicliptera chinensis</i> (L.) Nees	全草 Whole plant	—	—
金钱草 <i>Lysimachia christinae</i> Hance	全草 Whole plant	—	—
苦瓜 Bitter gourd	果实 Fruit	—	—
石榴皮 <i>Punica granatum</i> L.	果皮 Peel	—	—

续表 1 Continued table 1				
中草药 Chinese herbal medicine	药用部位 Medicinal part for antibacterial sceening	抑菌圈直径/mm Diameter of inhibition zone		
		无乳链球菌 <i>S. agalactiae</i>	海豚链球菌 <i>S. iniae</i>	
莲心 <i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.	胚芽 Germ	—	—	
桂皮 <i>Cinnamomum japonica</i> Sieb	皮 Bark	—	—	
白茅根 <i>Imperata cylindrical</i> (Linn.)Beauv	根茎 Rizhom	—	—	
生黄精 <i>Polygonatum sibiricum</i> Red.	根茎 Rizhom	—	—	
犁头草 <i>Viola inconspicua</i> Blume	全草 Whole plan	—	—	
益母草 <i>Leonurus heterophyllus</i> Sweet	茎、叶 Stems and leaves	—	—	
苦郎藤 <i>Cissus assamica</i> (Laws.)	藤茎 Cane	—	—	
秦皮 <i>Fraxinus rhynchophylla</i> Hance	树皮 Bark	—	—	
花粉 <i>Trichosanthes kirilowii</i> Maxim	根 Root	—	—	
白芷 <i>Angelica dahurica</i> (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. ex. Franch. et Sav.	根 Root	—	—	
黄毛耳草 <i>Hedyotis chrysotricha</i> (Palib.)Merr	全草 Whole plant	—	—	
吴茱萸 <i>Evodia rutaecarpa</i> (Juss.)Benth	果实 Fruit	—	—	
大青叶 <i>Isatis indigotica</i> Fort	叶 Leaf	—	—	
板蓝根 <i>Isatis indigotica</i> Fort	根 Root	—	—	
苍术 <i>Atractylos lancea</i> (Tumb.)DC	根茎 Rizhom	—	—	
金樱子 <i>Rosa laevigata</i> Michx	果实 Fruit	—	—	
贯众 <i>Woodwardia unigemmata</i> (Makino)Nakai	根茎 Rizhom	—	—	
半枝莲 <i>Portulaca grandiflora</i> Hook	全草 Whole plant	—	—	
重楼 <i>Paris polyphylla</i> Smith var yunnansis(Franch.)	根茎 Rizhom	—	—	
广郁金 <i>Curcuma kwangsiensis</i> S. G. Lee et C. F. Liang	块根 Rizhom	—	—	
天冬 <i>Asparagus cochinchinensis</i> (Lour.)Merr	块根 Rizhom	—	—	
黄根 <i>Prismatomeri connata</i> Y. Z. Ruan	根 Root	—	—	
红花 <i>Carthamus tinctorius</i> L.	花 Flower	—	—	
紫花地丁 <i>Viola yedoensis</i> Makino	全草 Whole plant	—	—	
山慈菇 <i>Pleione bulbocodioides</i> (Franch.)Rolfe	球茎 Bulb	—	—	
南五味子 <i>Schisandra sphenanthera</i> Rehd. et Wils	果实 Fruit	—	—	
黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	根 Root	—	—	
白术 <i>Atractylodes macrocephala</i> Koidz.	根茎 Rizhomz	—	—	
黄花倒水莲 <i>Polygala aureocauda</i> Dunn	根 Root	—	—	
麦冬 <i>Ophiopogon Japonicus</i> (L. F.)Ker-Gawl	块根 Root	—	—	
鸡骨草 <i>Abrus cantoniensis</i> Hance	全草 Whole plant	—	—	
大黄 <i>Rheum palmatum</i> L.	根茎 Rizhom	—	—	
小肿节风 <i>Sarcandra glabra</i> (Thunb.)Nakai	全株 Whole plant	—	—	
野菊 <i>Dendranthema indicum</i> (Linn.)Des Moul	花 Flower	—	—	
黄芪 <i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.)Bge	根 Root	—	—	
大青叶 <i>Isatis indigotica</i> Fort.	叶 Leaf	—	—	
马齿苋 <i>Portulaca oleracea</i> L.	全草 Whole plant	—	—	
乌梅 <i>Prunus mume</i> (Sieb)Sieb. et Zucc.	果实 Fruit	—	—	
鸦胆子 <i>Brucea javanica</i> (L.)Merr.	果实 Fruit	—	—	
泽泻 <i>Alisma orientalis</i> (Sam.)Juzep.	块茎 Tubers	—	—	
银柴胡 <i>Stellaria dichotoma</i> L. var . lanceolata Bge	根 Root	—	—	
姜黄 <i>Curcuma longa</i> L.	根茎 Rizhom	—	—	
金果榄 <i>Tinospora capillipes</i> Gagnep	块根 Root	—	—	
玄参 <i>Scrophularia ningpoensis</i> Hemsl.	根 Root	—	—	
附子 <i>Aconitum carmichaelii</i> Debx	根 Root	—	—	
雷公藤 <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.	全草 Whole plant	—	—	
六月雪 <i>Serissa serissoides</i> (DC.)Druce	全草 Whole plant	—	—	
石上柏 <i>Selaginella doederleinii</i> Hieron	全草 Whole plant	—	—	
生地黄 <i>Rehmannia glutinosa</i> Libosch	块根 Root	—	—	
小木通 <i>Clematis armandii</i> Franch	藤茎 Cane	—	—	
川 穹 <i>Ligusticum chuanxiong</i> Hort	根茎 Rizhom	—	—	

续表 1 Continued table 1

中草药 Chinese herbal medicine	药用部位 Medicinal part for antibacterial sceening	抑菌圈直径/mm Diameter of inhibition zone	
		无乳链球菌 <i>S. agalactiae</i>	海豚链球菌 <i>S. iniae</i>
女贞子 <i>Fructus Ligustri</i> Lucidi	果实 Fruit	—	—
柴胡 <i>Bupleurum chinense</i> DC.	根 Root	—	—
升麻 <i>Cimici fuga foetida</i> Linn.	根茎 Rizhom	—	—
地胆草 <i>Elephantopus scaber</i> L.	全草 Whole plant	—	—
四季青 <i>Ilex chinensis</i> Sims.	全株 Whole plant	—	—
白头翁 <i>Pulsatilla chinensis</i> (Bunge) Regel	根 Root	—	—
牡丹皮 <i>Paeonia suffruticosa</i> Andr.	根皮 Root bark	—	—
商陆 <i>Phytolacca acinosa</i> Roxb	根 Root	—	—
知母 <i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bge	根茎 Rizhom	—	—
叶下珠 <i>Phyllanthus urinaria</i> Linn	全草 Whole plant	—	—
青葙子 <i>Celosia argentea</i> L.	种子 Seed	—	—
鸭舌草 <i>Monochoria vaginalis</i> (Burm. f.) Presl	全草 Whole plant	—	—
菟丝子 <i>Cuscuta chinensis</i> Lam	果实 Fruit	—	—
佩兰 <i>Eupatorium fortunei</i> Turcz	茎、叶 Stems and leaves	—	—
锁阳 <i>Cynomorium songaricum</i> Rupr.	茎 Stem	—	—
苦丁茶 <i>Ilex kudingcha</i> C. J. Tseng	叶 Leaf	—	—
荆芥 <i>Schizonepeta tenuifolia</i> (Benth.) Briq.	茎、叶 Stems and leaves	—	—
满山香 <i>Schisandra propinqua</i> (Wall) Hook. f. et Thoms.	枝、叶 Branches and leaves	—	—
大黄 <i>Rheum palmatum</i> L.	根茎 Rizhom	—	—
连翘 <i>Forsythia suspensa</i> (Thunb.) Vahl.	果实 Fruit	—	—
决明子 <i>Catsia tora</i> L	果实 Fruit	—	—
胆草 <i>Gentiana scabra</i> Bge.	根茎 Rizhom	—	—
地骨皮 <i>Lycium chinense</i> Mill.	根皮 Root bark	—	—
龙胆草 <i>Gentiana scabra</i> Bge.	根茎 Rizhom	—	—
赤芍 <i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	根 Root	—	—
广防己 <i>Radix Aristolchiae</i> Fangchi	根 Root	—	—
夏枯草 <i>Prunella vulgaris</i> Linn.	果穗 Ear	—	—
广西地不容 <i>Stephania kwangsiensis</i> H. S. Lo	块根 Root	—	—
使君子 <i>Quisqua lis ind ica</i> L.	果实 Fruit	—	—
徐长卿 <i>Cynanchum paniculatum</i> Kitag	根茎 Rizhom	—	—
了哥王 <i>Wikstroemia indica</i> (L.) C. A. May	全草 Whole plant	—	—
黄柏 <i>Phellodendron amurense</i> Rupr.	皮 Skin	—	—
梔子 <i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	果实 Fruit	—	—
贯叶连翘 <i>Hypericum perforatum</i> L.	全草 Whole plant	—	—
胡黄连 <i>Picrorhiza scrophulariiflora</i> Pennell	根茎 Rizhom	—	—
穿心莲 <i>Andrographis paniculata</i> (Burm. f.) Nees	全草 Whole plant	—	—
百部 <i>Stemona tuberosa</i> Lour.	块茎 Tubers	—	—
地锦草 <i>Euphorbia humifusa</i> Willd.	全草 Whole plant	—	—
木蝴蝶 <i>Oroxylum indicum</i> (L.) Vent.	种子 Seed	—	—

注:抑菌圈直径包括滤纸片孔径 6 mm;“+”. 抑菌圈直径小于 10 mm,抑菌活性微弱;“—”. 无抑菌作用。
Note: The diameter of inhibition zone(DIZ)included the diameter of the fillter paper, which was 6 mm. “+” means the diameter of inhibition zone(DIZ)is more than 10 mm, “—” means the DIZ value is less than 10 mm, and has no inhibitory activity against the bacterial.

2.2 中草药提取物的 MIC 和 MBC

采用琼脂扩散法,测定了筛选出的 8 种对无乳链球菌有明显抑菌效果的中草药提取物的 MIC 和 MBC,结果表明,试剂对照和阳性对照的浊度相当,说明试剂对该菌的生长未产生明显的影响;通过 3 个不同起始浓度,缩小了质量浓度间的距离,本试验结果是以 60. 00,70. 00,80. 00 mg/mL 3 个不同最

高起始质量浓度测试,得出了 MIC、MBC 中最小值的平均值(表 2)。表 2 显示,博落回、十大功劳、三颗针、紫草、田基黄、田七须、补骨脂、五倍子对无乳链球菌有一定抑菌作用,其中三颗针的 MIC 和 MBC 值分别为 0. 31 和 0. 63 mg/mL,均小于其他 7 种中草药,表明其对无乳链球菌的抑菌、杀菌效果最显著;博落回、十大功劳、五倍子、田基黄、补骨脂的

$MIC \leq 5.00$ mg/mL, $MBC \leq 10.00$ mg/mL, 表明它们对无乳链球菌也有很强的杀菌抑菌效果。紫草、田七须抑制作用较弱, 其 MIC 分别为 8.75 和 15.00 mg/mL, MBC 分别为 17.50 和 40.00 mg/mL。

对海豚链球菌有明显抑菌效果的 17 种中草药提取物的 MIC 和 MBC 测定结果见表 2。表 2 显示, 博落回、三颗针、五倍子的 MIC 分别为 0.94, 1.25 和 1.25 mg/mL, MBC 分别为 1.88, 2.50 和

2.50 mg/mL, 均小于其他中草药, 表明其对海豚链球菌表现出最好的抑菌杀菌效果; 鬼针草、香薷、千斤拔、田基黄、苦参、补骨脂、虎刺的 $MIC \leq 5.00$ mg/mL, $MBC \leq 10.00$ mg/mL, 表明它们对海豚链球菌的抑菌效果也较好。败酱草、紫草、羌活、北五味子、翠云草对海豚链球菌的作用较弱, 其 $MIC \leq 10.00$ mg/mL, $MBC \leq 20.00$ mg/mL。

表 2 中草药提取物对无乳链球菌和海豚链球菌的最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)

Table 2 Minimum inhibitory concentrations and minimal bactericidal concentrations of extracts of Chinese herbal medicines to pathogen <i>S. agalactiae</i> and <i>S. iniae</i>					mg/mL
名称 Name	无乳链球菌 <i>S. agalactiae</i>		海豚链球菌 <i>S. iniae</i>		
	<i>MIC</i>	<i>MBC</i>	<i>MIC</i>	<i>MBC</i>	
田七须 <i>P. notoginseng</i>	15.00	40.00	17.50	40.00	
败酱草 <i>P. villosa</i>	—	—	8.75	20.00	
紫草 <i>L. erythrorhizon</i>	8.75	17.50	10.00	17.50	
虎刺 <i>D. indicus</i>	—	—	3.75	7.50	
羌活 <i>N. incisum</i>	—	—	10.00	15.00	
北五味子 <i>S. chinensis</i>	—	—	8.75	17.50	
苦参 <i>S. flavescens</i>	—	—	5.00	10.00	
五倍子 <i>Galla chinensis</i>	1.25	2.50	1.25	2.50	
翠云草 <i>S. uncinata</i>	—	—	10.00	17.50	
补骨脂 <i>P. corylifolia</i>	5.00	10.00	2.50	5.00	
甘草 <i>B. bipinnata</i>	—	—	17.50	35.00	
田基黄 <i>H. japonicum</i>	4.38	8.75	3.75	7.50	
千斤拔 <i>F. philippinensis</i>	—	—	2.50	5.00	
香薷 <i>E. patrinii</i>	—	—	4.38	8.75	
十大功劳 <i>M. fortunei</i>	2.50	5.00	—	—	
博落回 <i>M. cordata</i>	0.63	1.25	0.94	1.88	
鬼针草 <i>B. bipinnata</i>	—	—	2.50	5.00	
三颗针 <i>Berberis</i> spp.	0.31	0.63	1.25	2.50	

3 讨论与结论

中草药具有抑制或杀灭病原微生物的特性, 常用于治疗由细菌引起的疾病^[8]。本研究对 153 种中草药的抗无乳链球菌与海豚链球菌的活性进行了筛选, 结果发现, 对这 2 种病原菌具有抑制活性的中草药种类有一定的差异, 博落回、紫草、田基黄、补骨脂、三颗针、田七须、五倍子对无乳链球菌和海豚链球菌均表现出一定的抑菌活性, 其中博落回和三颗针对无乳链球菌与海豚链球菌的抑菌效果均较显著。

中草药在体外虽然具有明显的抑菌活性, 但能否开发成为具有实际应用价值的水产药物, 还受很多因素限制, 需结合动物体内试验才可以评价。本试验仅对中草药提取物的体外抗菌活性进行了研究, 而渔药的开发还必须根据水生生物的特点, 并结

合药物动力学与药效学等因素进行研究。因此, 部分中草药虽然在体外有较强的抑菌效果, 是否可以开发为渔药, 还需进一步研究。

在水产领域中, 植物中的酚类成分包括多酚、生物碱类、蒽醌、萜类, 凝集素和多肽, 人们对其进行了较为深入的研究^[9]。五倍子的抗菌成分主要是鞣质^[10], 其对凡纳滨对虾的哈维氏弧菌^[11]、水体中的细菌和藻类具有抑制和杀灭作用^[8]; 紫草所含的蒽醌成分通过抑制细菌生物膜的形成而发挥抑菌作用的^[12]; 田基黄主要通过黄酮类成分对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌具有抑制作用^[13]; 田七须所含的 C-30、C-27 皂苷具有抗菌作用^[11]; 博落回、三颗针主要通过喹啉类生物碱如黄连素, 对常见的革兰氏阳性菌、革兰氏阴性细菌发挥明显的的抗菌作用^[14]。本试验筛选出的抗链球菌的中草药有效成分和作用机制有待进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 卢迈新. 罗非鱼链球菌病研究进展 [J]. 南方水产, 2010, 6(1): 75-79.
Lu M X. Review of research on streptococcosis in tilapia [J]. South China Fisheries Science, 2010, 6(1): 75-79. (in Chinese)
- [2] 何爱华, 张 曦, 陶琳丽, 等. 6 种中草药对 4 种淡水鱼致病菌体外抑菌作用的研究 [J]. 南方水产科学, 2011, 7(2): 73-76.
He A H, Zhang X, Tao L L, et al. *In vitro* antibacterial activity of 6 Chinese herbal medicines against 4 pathogens of freshwater fish [J]. South China Fisheries Science, 2011, 7(2): 73-76. (in Chinese)
- [3] 童国忠, 石亚素, 马剑雷, 等. 中草药对海水养殖黄鱼病原弧菌抑菌效果研究 [J]. 水产科学, 2007, 26(8): 436-439.
Tong G Z, Shi Y S, Ma J Y, et al. Antibacterial effect of Chinese herbal medicines on pathogenic bacteria in Large Yellow Croaker *Pseudosciaena crocea* in marine Cage culture [J]. Fisheries Science, 2007, 26(8): 436-439. (in Chinese)
- [4] 张 彬, 黄 婷, 陈福艳, 等. 10 种中草药及 4 种组方对罗非鱼致病性海豚链球菌体外抑菌试验 [J]. 淡水渔业, 2011, 41(5): 35-39.
Zhang B, Huang T, Chen F Y, et al. Studies on antibacterial effects of 10 kinds of Chinese medicinal herbs and four combinations on pathogenic *Streptococcus iniae* from tilapia *in vitro* [J]. Freshwater Fisheries, 2011, 41(5): 35-39. (in Chinese)
- [5] 郑天伦, 王国良, 金 珊. 网箱养殖大黄鱼弧菌病的中草药防治 [J]. 水产科学, 2005, 24(2): 24-25.
Zheng T L, Wang G L, Jin S. Administration of Chinese herb medicines in control of cibriosis in cage-cultured Large Yellow Croaker [J]. Fisheries Science, 2005, 24(2): 24-25. (in Chinese)
- [6] 张 彬, 黄 婷, 陈福艳, 等. 罗非鱼致病性海豚链球菌药敏及中草药提取液体外抑菌试验 [J]. 广东农业科学, 2010(9): 162-165.
Zhang B, Huang T, Chen F Y, et al. Studies on antibacterial effects of antibiotic drugs and Chinese medicinal herbs to the pathogen of *Streptococcus iniae* disease from tilapia *in vitro* [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2010(9): 162-165. (in Chinese)
- [7] 徐叔云, 卞如链, 杨 修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1647-1667.
Xu S Y, Bian R L, Yang X. Pharmacological experimental methodology [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006: 1647-1667. (in Chinese)
- [8] 祖国掌, 李槿年, 许建新, 等. 五倍子对池水细菌和藻类的影响 [J]. 应用生态学报, 2007, 18(8): 1837-1842.
Zu G Z, Li J N, Xu J X, et al. Effects of *Galla chinensis* on bacteria and algae in pool water [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2007, 18(8): 1837-1842. (in Chinese)
- [9] Citarasu T. Herbal biomedicines: A new opportunity for aquaculture industry [J]. Aquacultural Engineering, 2010, 18: 403-414.
- [10] Djakpo O, Yao W L. *Rhus Chinensis* and *Galla Chinensis*-Folklore to modern evidence: Review [J]. Phytotherapy Research, 2010, 24(12): 1739-1747.
- [11] Ger Jiinju, Her B Y, Chou Rueyling, et al. Screening of modern herbal medicines in White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against *Vibrio harveyi* infection [J]. Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh, 2011, 63: 1-7.
- [12] Ding X, Yin B, Qian L, et al. Screening for novel quorum-sensing inhibitors to interfere with the formation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm [J]. Journal of Medical Microbiology, 2011, 60(12): 1827-1834.
- [13] An J, Zuo G Y, Hao X J, et al. Antibacterial and synergy of a flavanone *rhamnoside* with antibiotics against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [J]. Phytomedicine (Jena), 2011, 18(11): 990-993.
- [14] Shahid M, Rahim T, Shahzad A, et al. Ethnobotanical studies on *Berberis aristata* DC. root extracts [J]. African Journal of Biotechnology, 2009, 8(4): 556-563.