

中药对鳃鲙病原菌的体外抑制作用

李忠琴^{1,2}, 关瑞章^{1,2*}, 汪黎虹^{1,2}, 刘宏伟^{1,2}

(1.集美大学 水产学院, 福建 厦门 361021; 2.教育部鳃鱼产业技术工程研究中心, 福建 厦门 361021)

摘要: 研究虎杖、石榴皮、大黄、黄芩、五倍子、黄连、冬凌草、独活、贯众、木贼草等 10 种中药材单用和五倍子、大黄、石榴皮、虎杖、黄芩、黄连两两联用(15 种配方)对从养殖病鳃中分离得到的 12 株常见病原菌的抑菌作用。结果表明: 中药单用对病原菌均有不同程度的抑制作用, 其中, 五倍子的抑菌作用最强, 其次是大黄和石榴皮, 木贼草的抑菌作用最差; 中药联用呈现协同效应($FIC < 1$)的占 68.3%, 其中有显著协同效应($FIC < 0.5$)的占 26.0%, 与中药单用相比, 中药联用对大多数病原菌的抑制作用增强, 且可大大减少单一中药的给药浓度。

关键词: 鳃鲙; 病原菌; 中药; 抑菌活性

中图分类号: S859.3 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2011)03-0306-06

Antibacterial activity of Chinese herbs against pathogenic bacteria from eels *in vitro*

LI Zhong-qin^{1,2}, GUAN Rui-zhang^{1,2*}, WANG Li-hong^{1,2}, LIU Hong-wei^{1,2}

(1.College of Fisheries, Jimei University, Xiamen, Fujian 361021, China; 2.Ministry of Education, Engineering Research Center of Eel Modern Industrial Technology, Xiamen, Fujian 361021, China)

Abstract: To study antibacterial activity of Chinese herbs as *Scutellaria baicalensis* Georgi, *Coptis chinensis* Franch, *Rhus chinensis* Mill, and so on, and their double-compounds, minimum inhibitory concentration (MIC) of single Chinese herb and the compounds against twelve pathogenic bacteria from eels were measured by agar dilution method. The results showed that ten kinds of Chinese herbs had antibacterial effect in different extent on the twelve bacteria. *Rhus chinensis* Mill had the best antibacterial activity, followed by *Rheum palmatum* Linn and *Punica granatum* Linn, and *Equisetumra mosissimum* Desf had the smallest antibacterial activity. Fifteen combinations had synergism antibacterial effects against pathogenic bacteria. Compared to single Chinese herb, antibacterial activity of almost all compounds had increased. The fractional inhibitory concentration (FIC) index of < 1 , was detected in 68.3% of the compounds, and FIC index of < 0.5 was detected in 26.0% of the compounds. The study also indicated that rational use of Chinese herbal compounds not only can increase drug antimicrobial efficacy, but also can significantly reduce the concentration of Chinese herbs in the compounds.

Key words: eel; pathogenic bacteria; Chinese herbs; antibacterial activity

中国是世界上最大的鳃鲙生产国^[1]。养殖鳃鲙 有一定的治疗效果, 但副作用较多, 由于潜在性毒 病害时有发生^[2-3]。化学药物对鳃鲙细菌性疾病虽 害, 多数疗效较好的化学药物被禁止在渔业中使

收稿日期: 2011-03-22

基金项目: 农业部科研专项(3-51); 福建省科技计划重点项目(2009N0046); 福建省教育厅重点项目(JA09157); 福建省科学技术厅项目(2009N2003-1); 厦门市重点项目(3502Z20103023); 集美大学创新团队基金(2010A003); 集美大学博士科研启动基金(ZQ2008015); 集美大学优秀青年骨干教师基金(2008C001)

作者简介: 李忠琴(1976—), 女, 福建莆田人, 博士, 主要从事生物制药与水产病害防治的研究, zhqinli@jmu.edu.cn; *通信作者, rzguan@jmu.edu.cn

用^[1-4]。中草药具有低毒、低残留,对非靶标生物毒害较低,对环境无污染,可降低或避免当前化学渔药带来的“农药公害”等优点,具有抗微生物、驱(杀)虫等功效,可通过增强机体免疫功能和抗应激能力,对机体起到双向调节作用等^[5-7],已逐渐成为渔药领域的研究热点。多种中药联用在养殖生产中的应用日益引起国内外研究者的重视^[8-10],但用于防治鳃鲙细菌性疾病的的研究和开发甚少,仅李国平^[11]报道了防治鳃鲙细菌性肠炎的几种常用中药联用复方,以及钟全福^[12]测试了黄连、地锦草、乌梅、黄芩、大青叶等对5株欧鳃致病菌(霍乱弧菌、温和气单胞菌、鲁氏不动杆菌、迟钝爱德华氏菌和嗜水气单胞菌)的单用和联用抑菌效果。在前期研究^[13-14]的基础上,笔者采用超微药粉琼脂平板稀释法,对12株养殖鳃鲙常见病原菌进行体外中药单方和复方的药物敏感试验,旨在筛选出高效抑菌中药和中药联用配方。

1 材料与方法

1.1 菌株

12株病原菌(B01、B02、B05、B08、B11、B13、B14、B16、B17、B19、B27、B31)均为教育部鳃鱼产业技术工程研究中心近年从福建各地养殖场病鳃中分离得到,经过人工感染试验证实为强病原菌。通过生理生化和基因鉴定,其中,B11为豚鼠气单胞菌(*Aeromonas caviae*);B14、B27、B31为嗜水气单胞菌(*A. hydrophila*);B19为维罗纳气单胞菌(*A. veronii*);B01、B02、B13、B16为腐败希瓦杆菌(*Shewanella putrefaciens*);B08为肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)菌;B05、B17为非发酵菌科(*Nonfermenters*)菌。

1.2 药材及其加工

药材:虎杖(*Rhizoma polygoni Cuspidati*)产于福建;石榴皮(*Punica granatum* Linn)产于甘肃;大黄(*Rheum palmatum* Linn)产于甘肃;黄芩(*Scutellaria baicalensis georgi*)产于河北;五倍子(*Rhus chinensis* Mill)产于湖北;黄连(*Coptis chinensis* Franch)产于四川;冬凌草(*Rabdosia rubescens* Hara)产于河南;独

活(*Radix angelicae Biseratae*)产于安徽;贯众(*Dryopteris bissetiaha* Bak)产于四川;木贼草(*Equisetumra mosissimum* Desf)产于安徽。

将所选的药材用中药粉碎机(FW177,天津市泰斯特仪器有限公司)粉碎,然后放入超微粉碎机(YSC-701,北京燕山正德机械设备有限公司)进一步粉碎,收集超微药粉,备用。在扫描电子显微镜下观察药粉,90%以上的颗粒粒径为5~10 μm。

1.3 菌悬液的制备

从保种斜面上挑取菌落,划线接种于M-H琼脂(mueller-hinton agar)平板,于28℃恒温培养20h;挑取单个菌落划线至新鲜斜面上,于28℃恒温培养24h后,用无菌生理盐水将菌体冲下,用酶标仪测定菌液浓度,测定波长为600 nm。采用菌落计数法^[8]将不同菌株的菌液 $OD_{600\text{ nm}}$ 调到约为0.2~0.3时,对应活菌计数值约为 10^8 cfu/mL;将菌液稀释10倍,调活菌计数值至 10^7 cfu/mL,即可作为药敏试验接种的菌悬液。

1.4 药敏试验

取已制备好的菌悬液2 μL,点种于经过121℃ 20 min 灭菌后的药敏培养基平板上,每个药物浓度梯度做2组平行,于28℃恒温分别培养24h后,观察药板上菌落的生长情况。以24h无菌落形成的最低浓度作为中药对该菌株的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。若2个平行组的MIC值不一致,重做试验。

1.5 药敏培养基的配制

单用药敏培养基的配制:采用琼脂稀释法,在mueller-hinton broth (MHB)培养基中添加单种中药超微粉,以质量浓度1 g/mL开始进行二倍稀释,配置不同浓度梯度的药敏培养基平板。

联用药敏培养基的配制:在中药单用药敏试验的基础上,选取其中抑菌作用较强的6种中药两两联用,组成15个双药联用配方(HC1~HC15)。以参与双联用的2种中药超微粉为溶质,以MHB培养基为溶剂,分别以每种中药单用最低抑菌浓度的25%、50%、100%、200%,采用棋盘交叉法,每种

药方配制出 16 个浓度配比的中药双联用药敏培养基平板。

1.6 抑菌作用评价

用双联用指数(fractional inhibitory concentration, *FIC*)评价不同中药双联用的抑菌效果。判断标准： $FIC \leq 0.5$ 为显著协同作用； $0.5 < FIC < 1.0$ 为协同作用； $FIC = 1.0$ 为相加作用； $1 < FIC < 2$ 为无关作用； $FIC \geq 2$ 为拮抗作用。

$$FIC = MIC_{\text{甲药联合}} / (MIC_{\text{甲药单用}} + MIC_{\text{乙药联合}}) / MIC_{\text{乙药单用}}$$

2 结果与分析

2.1 中药单用对 12 株病原菌的抑制作用

表 1 结果表明：五倍子、大黄、虎杖等 10 种中药对 12 株常见病原菌均有一定的抑制作用，但最低抑菌浓度差异明显，*MIC* 为 0.063~128.000 mg/mL；每种中药的平均最低抑菌浓度差别明显，抑菌作用较强的 6 种中药为五倍子、大黄、石榴皮、虎杖、黄芩、黄连；独活和木贼草的抑菌作用最差。

表 1 10 种中药单用对 12 株病原菌体外抑菌的最低浓度

Table 1 MIC of ten Chinese herbs on the twelve pathogenic bacteria from eels

病原菌	最低抑菌浓度									
	五倍子	大黄	石榴皮	虎杖	黄芩	黄连	冬凌草	贯众	独活	木贼草
B01	0.063	0.750	0.375	0.375	1.500	0.750	1.500	1.500	6.000	32.000
B02	0.250	0.750	0.750	0.375	3.000	1.500	3.000	6.000	32.000	32.000
B05	0.250	0.750	1.500	0.375	3.000	1.500	3.000	6.000	32.000	32.000
B08	0.250	0.750	1.500	0.375	3.000	1.500	3.000	6.000	32.000	32.000
B11	0.125	0.750	0.750	3.000	1.500	3.000	0.750	1.500	8.000	16.000
B13	0.250	0.750	3.000	0.375	3.000	1.500	3.000	6.000	32.000	32.000
B14	0.125	1.500	3.000	3.000	1.500	6.000	16.000	128.000	128.000	128.000
B16	0.063	0.750	0.375	0.375	1.500	0.750	3.000	6.000	16.000	32.000
B17	0.250	0.750	1.500	0.375	3.000	1.500	3.000	6.000	16.000	32.000
B19	0.125	1.500	0.750	3.000	1.500	3.000	1.500	1.500	16.000	16.000
B27	0.063	1.500	0.750	3.000	1.500	6.000	1.500	1.500	16.000	16.000
B31	0.125	1.500	0.750	3.000	1.500	3.000	1.500	1.500	16.000	32.000
平均	0.162	1.000	1.250	1.469	2.125	2.500	3.396	14.292	29.167	36.000

2.2 中药双联用对 12 株病原菌的抑制作用

在中药单用抑菌试验的基础上，选取其中抑菌作用较强的 6 种中药（五倍子、大黄、石榴皮、虎杖、黄芩和黄连）两两联用。由表 2 可见，15 个双联用配方对 12 株病原菌的抑制作用不同。与单用平均抑菌浓度相比，多数双联用药方的最低抑菌浓度均有不同程度的降低，其中五倍子、大黄、石榴皮的最低抑菌浓度分别减小了 50%、34.4%、51.2% 以上，但虎杖与黄连联用时虎杖的平均最低抑菌浓度增加了 13.8%，虎杖与黄芩联用时黄芩的平均最低抑菌浓度增加了 7.3%，说明联用可以提高某些中药的抑菌活性，也可以使某些中药的药性相互抵消，降低抑菌活性。

2.3 中药双联用对 12 株病原菌的联用效应

由表 3 可见，15 个复方中，多数配方对绝大多数病原菌起到了提高抑菌活性的协同作用，协同率（协同率=双联用药方对致病菌产生协同作用的菌株数/12）为 68.3%，其中，显著协同的协同率为 26.0%，仅 5 种双联用配方对某几株病原菌出现降低抑菌活性的拮抗作用，占 6.1%。15 个复方中，大黄和石榴皮联合的抑菌效果最佳，协同率为 100%；有 6 个复方(HC6、HC7、HC8、HC9、HC10、HC11)对 12 株病原菌均表现为协同作用或相加效应($FIC \leq 1$)；大黄与其他 5 种中药联用未出现拮抗效应，均能获得良好的协同抑菌效果，大黄与虎杖、五倍子联用对 12 株病原菌分别有 67%和 42%呈现显著协

同效应($FIC < 0.5$)。虽然 6 种中药之间大多数存在协同作用,但也有复方对病原菌的抑菌活性没有增强,甚至出现了 2 种药彼此削弱抑菌活性的情况($FIC > 1$),虎杖和黄芩联用的拮抗效应表现突出,对

12 株供试病原菌中的 7 株菌有拮抗作用,拮抗率达 58.3%,仅对 B01、B16 有协同抑制作用,对剩余的 3 株菌,2 种中药抑菌活性之间没有关联。

表 2 中药双联用对 12 株病原菌体外抑菌的最低浓度

Table 2 Inhibitory effect of double-combined Chinese Herbs on the twelve pathogenic bacteria from eels mg/mL

病原菌	最低抑菌浓度													
	HC1		HC2		HC3		HC4		HC5		HC6		HC7	
	A	B	A	C	A	D	A	E	A	F	C	B	C	D
B01	0.063	0.094	0.031	0.188	0.031	0.188	0.031	0.375	0.031	0.188	0.188	0.094	0.375	0.094
B02	0.063	0.188	0.063	0.188	0.063	0.750	0.125	0.750	0.063	0.750	0.188	0.188	0.375	0.188
B05	0.063	0.188	0.063	0.188	0.063	0.750	0.125	0.375	0.063	0.750	0.188	0.188	0.188	0.188
B08	0.063	0.188	0.063	0.188	0.063	0.750	0.125	0.750	0.125	0.750	0.188	0.188	0.375	0.188
B11	0.063	0.188	0.063	0.188	0.063	0.188	0.063	0.375	0.063	1.500	0.188	0.750	0.188	0.375
B13	0.031	0.188	0.063	0.188	0.125	0.750	0.125	0.750	0.063	0.750	0.188	0.094	0.375	0.375
B14	0.031	0.188	0.063	0.375	0.063	0.375	0.063	0.375	0.063	3.000	0.375	0.188	0.375	0.094
B16	0.031	0.188	0.063	0.375	0.031	0.188	0.063	0.375	0.063	0.188	0.188	0.094	0.375	0.094
B17	0.125	0.094	0.063	0.188	0.125	0.750	0.063	1.500	0.063	0.375	0.375	0.188	0.188	0.375
B19	0.031	0.094	0.063	0.188	0.063	0.188	0.063	0.375	0.063	1.500	0.188	0.750	0.375	0.094
B27	0.063	0.375	0.063	0.375	0.063	0.750	0.063	0.375	0.063	1.500	0.188	0.750	0.188	0.375
B31	0.063	0.188	0.063	0.375	0.063	0.188	0.063	0.375	0.063	1.500	0.188	0.750	0.188	0.375
平均值	0.058	0.180	0.060	0.250	0.068	0.485	0.081	0.563	0.066	1.063	0.219	0.352	0.297	0.235

病原菌	最低抑菌浓度															
	HC8		HC9		HC10		HC11		HC12		HC13		HC14		HC15	
	D	E	D	B	C	F	C	E	B	F	D	F	B	E	E	F
B01	0.188	0.750	0.094	0.188	0.375	0.188	0.188	0.375	0.188	0.375	0.188	0.375	0.188	0.188	1.500	0.188
B02	0.188	1.500	0.094	0.188	0.375	0.375	0.375	0.750	0.375	0.750	0.750	1.500	0.375	0.750	0.375	1.500
B05	0.750	1.500	0.750	0.094	0.375	0.375	0.375	0.375	0.188	0.375	0.188	0.750	0.375	0.750	1.500	1.500
B08	0.188	0.750	0.750	0.188	0.375	0.375	0.375	0.375	0.375	0.750	0.375	1.500	0.375	0.375	1.500	0.750
B11	0.188	0.750	0.188	1.500	0.375	1.500	0.375	0.375	1.500	1.500	0.188	0.375	0.750	3.000	0.750	0.750
B13	0.750	1.500	0.750	0.188	0.375	0.375	0.375	0.375	0.188	1.500	0.375	0.750	0.750	0.375	1.500	0.750
B14	0.188	0.750	0.188	0.750	0.375	1.500	0.375	0.375	3.000	6.000	0.750	1.500	0.750	3.000	0.750	1.500
B16	0.188	0.750	0.094	0.188	0.375	0.188	0.188	0.375	0.188	0.375	0.188	0.375	0.188	0.188	1.500	0.750
B17	0.188	0.750	0.750	0.188	0.375	0.375	0.375	0.750	0.188	1.500	0.750	0.750	0.750	0.375	0.750	1.500
B19	0.188	0.750	0.188	0.375	0.375	1.500	0.375	0.375	0.750	1.500	0.750	0.375	0.375	3.000	0.750	0.750
B27	0.188	0.750	0.375	0.375	0.375	1.500	0.750	0.750	3.000	1.500	0.375	1.500	3.000	1.500	0.750	3.000
B31	0.188	0.750	0.375	0.375	0.750	0.750	0.750	0.375	0.750	1.500	0.375	1.500	3.000	3.000	0.750	0.750
平均值	0.407	1.313	0.555	0.618	0.594	1.281	0.656	0.625	1.672	2.406	0.610	1.313	1.438	2.281	1.281	1.766

A 五倍子; B 虎杖; C 大黄; D 石榴皮; E 黄芩; F 黄连。

表3 中药双联用抑制12株病原菌的协同效果

Table 3 Synergistic antibacterial effect of double-combined Chinese Herbs on the twelve pathogenic bacteria from eels

病原菌	FIC														
	HC7	HC6	HC11	HC10	HC2	HC4	HC1	HC9	HC8	HC3	HC5	HC13	HC15	HC12	HC14
B01	0.75	0.50	0.50	0.75	0.74	0.74	1.25	0.75	1.00	0.99	0.74	1.00	1.25	1.00	0.63
B02	0.75	0.75	0.75	0.75	0.50	0.75	0.75	0.63	0.75	1.25	0.75	2.00	1.13	1.50	1.25
B05	0.38	0.75	0.63	0.75	0.50	0.63	0.75	0.75	1.00	0.75	0.75	0.63	1.50	0.75	1.25
B08	0.63	0.75	0.63	0.75	0.50	0.75	0.75	1.00	0.38	0.75	1.00	1.25	1.00	1.50	1.13
B11	0.75	0.50	0.75	1.00	0.75	0.75	0.57	0.75	0.75	0.75	1.00	0.38	0.75	1.00	2.25
B13	0.63	0.50	0.63	0.75	0.50	0.75	0.63	0.75	0.75	0.75	0.75	0.63	1.00	1.50	2.13
B14	0.28	0.31	0.50	0.50	0.75	0.75	0.31	0.31	0.56	0.63	1.00	0.50	0.75	2.00	2.25
B16	0.75	0.50	0.50	0.75	1.50	1.25	0.99	0.75	1.00	0.99	1.25	1.00	2.00	1.00	0.63
B17	0.50	1.00	0.75	0.75	0.50	0.75	0.75	1.00	0.38	1.00	0.50	1.00	1.25	1.50	2.13
B19	0.38	0.38	0.50	0.75	0.63	0.75	0.28	0.38	0.75	0.75	1.00	1.13	0.75	0.75	2.13
B27	0.63	0.38	1.00	0.50	1.25	1.25	1.13	0.63	0.75	2.00	1.25	0.75	1.00	1.25	2.00
B31	0.63	0.38	0.75	0.75	0.75	0.75	0.57	0.63	0.75	0.75	1.00	1.00	0.75	0.75	3.00
协同率/%	100	92	92	92	83	83	83	83	75	75	50	42	33	25	17

3 结论与讨论

研究虎杖、石榴皮、大黄、黄芩、五倍子、黄连、冬凌草、独活、贯众、木贼草等10种中药单用和五倍子、大黄、石榴皮、虎杖、黄芩、黄连两两联用(15种配方)对从养殖病鳗中分离得到的12株常见病原菌的抑制效果。中药单用对病原菌均有不同程度的抑制作用,其中,五倍子的抑菌效果最好,其次是大黄和石榴皮,木贼草的抑菌作用最差;中药联用呈现协同效应($FIC < 1$)的占68.3%,其中有显著协同效应($FIC < 0.5$)的占26.0%,大黄与石榴皮联用的抑菌协同效果最好,与中药单用相比,多数中药联用对大多数病原菌的抑制作用增强,且可大大减少单一中药的给药浓度。

a. 中药对病原菌的抑制作用。张海濱^[15]报道了12种中药对嗜水气单胞菌的杀伤能力,结果表明,五倍子、大黄、黄连对嗜水气单胞菌的MIC均为12.5 mg/mL,黄芩的为50 mg/mL,比本试验中的抑菌浓度高10倍以上,这可能是由采用的药敏试验方法和病原菌的种类不同造成的。本试验中采用的超微药粉琼脂稀释法可以有效提高中药有效成分的溶出,从而提高了中药的抗菌活性^[13]。近年来有不少关于中药复方体外抑菌的研究。有研究^[9,16-17]表明,大多数中药复方的效果明显好于单方,表现出协同作用。彭金菊等^[10]的研究表明,中药复方的使用浓度比单方低。本试验结果进一步证明了中药

联用可以产生协同效应。

b. 中药对病原菌产生抑制作用的原因。用中药防治鱼病^[18-20]在中国已有几千年的历史,积累了大量的临床实践经验。中药联用不仅可以通过其主要化学成分间的增溶、助溶等物理作用来提高有效成分的溶出率,或者由于作用靶位的不同,促进了药物的渗透吸收,提高了生物利用度,增强了药效,而且可以在宏观上调节各药物的药性,提高机体的免疫力。将抑菌作用途径或靶点不同的中药联用,就可多位点、多途径攻击致病细菌的细胞,提高药物的杀伤力。这不仅可提高每种中药的抑菌活性,而且可在较低浓度下起到抑制或杀灭细菌的作用,如大黄的有效抑菌成分有大黄素和大黄酸,大黄素可以引起细菌DNA单链突变,造成DNA损伤,从而抑制细菌生长^[12-22];大黄酸可以抑制细菌菌体糖和糖代谢中间产物的氧化和脱氢,并与DNA结合,干扰蛋白质的合成^[23-24]。五倍子和石榴皮的有效抑菌成分是鞣质和鞣酸。鞣质可与蛋白质结合,使细胞内的蛋白质凝固,通过抑制细菌代谢酶的活性而发挥抑菌作用;鞣酸具有较强的酸性,可以改变细菌膜的通透性,促进细胞内外物质的交换^[25-27]。当五倍子或石榴皮与大黄联用时,鞣酸可促使大黄素和大黄酸等蒽醌类化合物进入致病菌细胞内,随后作用于相应靶点,故两者联用具有很好的协同抑菌作用。

c. 中药联用对病原菌产生拮抗作用的原因。本

试验结果表明,不同中药联用对不同病原菌产生的抑菌效果存在差异。李茜等^[8]的研究结果表明,中药联用也存在降低单种中药对病原菌抑制作用的情况。中药联用产生拮抗作用,可能是因为联用时发生了物理反应,使每种中药发挥药效的化学成分相互结合、吸附等,导致药物的溶出、吸收降低,甚至由于发生了化学反应而使原有的抑菌活性降低^[28]。曾惠芳等^[28]研究了虎杖单独煎煮以及虎杖分别与甘草、五倍子、山楂配伍煎煮后各种蒽醌的溶出量,结果显示,虎杖单独煎煮时,总蒽醌的含量为1 027 mg/L;虎杖与五倍子合煎后,总蒽醌的含量下降至797 mg/L;虎杖与山楂合煎后,总蒽醌的含量下降至60.4 mg/L,其原因可能是五倍子、山楂中含有丰富的有机酸,可促进蒽醌类化合物水解,使得虎杖与其配伍,煎煮后的总蒽醌含量下降。

参考文献:

- [1] 樊海平. 我国鳊鲈养殖业的现状与发展对策[J]. 科学养鱼, 2006(3): 1-2.
- [2] 陈爱萍. 鳊鲈养殖病害、用药情况及对策[J]. 科学养鱼, 2003(8): 38.
- [3] 樊海平, 钟全福. 今年上半年养殖鳊鲈病害发生概况与流行趋势[J]. 科学养鱼, 2006(8): 50.
- [4] 吴成业, 刘兆钧. 中国鳊业面临的问题与对策[J]. 福建水产, 2004(4): 16-19.
- [5] 王斌, 赵文. 复方中药制剂对草鱼免疫细胞功能及抗病力影响的初步研究[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(3): 203-206.
- [6] 李明锋. 中草药防治水产动物疾病的研究进展[J]. 现代渔业信息, 2003, 18(8): 10-14.
- [7] Punitha S M J, Babu M M. Immunostimulating influence of herbal biomedicines on nonspeci FIC immunity in *Grouper epinephelus tauvina* juvenile against *Vibrio harveyi* infection[J]. *Aquaculture International*, 2008, 16: 511-523.
- [8] 李茜, 张懿瑾, 华汝泉, 等. 23种中草药及复方对鲫鱼肠道3种细菌的体外抑菌试验[J]. 淡水渔业, 2007, 37(4): 7-11.
- [9] 李瑞, 白东清, 郭永军, 等. 9种中草药及17种组方对迟钝爱德华氏菌的体外抑菌试验[J]. 水利渔业, 2008, 28(4): 114-116.
- [10] 彭金菊, 马驿, 罗伟英, 等. 32种中药及其复方对嗜水气单胞菌的体外抑菌效果[J]. 中兽医医药杂志, 2009, 28(6): 5-7.
- [11] 李国平, 张继扬. 欧洲鳊肠炎病的中草药防治方法[J]. 中国水产, 1998(8): 29.
- [12] 钟全福, 樊海平. 中草药对欧洲鳊病原菌的抑制作用研究[J]. 水利渔业, 2002, 22(4): 44-46.
- [13] 刘宏伟, 关瑞章, 黄文树. 不同加工处理中草药对鳊鲈主要病原菌抑制作用的比较[J]. 集美大学学报, 2009, 14(3): 229-233.
- [14] 吴亮, 关瑞章, 黄文树. 氟苯尼考与4种中药联用对鳊鲈致病菌的抑制作用[J]. 集美大学学报, 2008, 13(1): 7-11.
- [15] 张海宾, 杨桂芳. 12种中草药对嗜水气单胞菌杀伤能力的研究[J]. 水产科学, 2006, 25(1): 16-18.
- [16] 梁用本. 中草药在防治鱼病中的应用[J]. 渔业致富指南, 2004(18): 53.
- [17] 胡先勤, 侯永清. 中草药提取物对鲫鱼生长及体成分的影响[J]. 粮食与饲料工业, 2005(5): 40-41.
- [18] 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.
- [19] 张海晖, 裴爱泳, 刘军海, 等. 中药大黄提取物对几种畜禽致病菌的抑菌作用研究[J]. 饲料工业, 2004, 25(11): 24-26.
- [20] 罗琳, 蔡雪峰, 成中芹. 5种常规中草药联用对鱼害粘球菌的药效研究[J]. 西南农业大学学报, 2000, 22(5): 463-465.
- [21] Wang Huang-Hui, Chun Jing-gun. Emodin-induced inhibition of growth and DNA damage in the *Helicobacter pylori* [J]. *Current Microbiology*, 1997, 35(5): 262-266.
- [22] 郭美姿, 徐海荣, 李孝生. 大黄酸药理作用的研究进展[J]. 国外医学: 中医中药分册, 2002, 3(24): 139-143.
- [23] 倪弘, 薛小平. 大黄酸抑制小鼠腹腔巨噬细胞炎性介质活化的作用机理[J]. 天津中医, 2001, 18(1): 35-36.
- [24] 刘现兵, 杜镇镇, 王冬, 等. 五倍子的体外抑菌作用研究[J]. 中国实用医药, 2008, 3(7): 96-97.
- [25] 乔树华, 蒋红云, 张燕宁, 等. 石榴皮抑菌活性物质的初步研究[J]. 农药, 2009, 48(4): 299-303.
- [26] 姚敬明, 张李俊. 石榴皮、五倍子中鞣质的提取及测定试验[J]. 中兽医学杂志, 2004(3): 4-6.
- [27] Sotohy S A, Muller W, Ismail A A. *In vitro* effect of Egyptian tannin-containing plants and their extracts on the survival of pathogenic bacteria[J]. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 1995, 102(9): 344-350.
- [28] 曾惠芳, 苏子仁, 史俏蓉, 等. 虎杖单煎、复方共煎过程中的物理化学变化初探[J]. 中国药房, 1999, 10(3): 112-113.

责任编辑: 王赛群