

中草药及其配伍对嗜水气单胞菌的抑菌作用

张文青 龚一富* 金 思 孙喆君 章 丽 童丽娟

(宁波大学生命科学与生物工程学院 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 315211)

摘 要 采用二倍稀释法测定了 86 种中草药对嗜水气单胞菌 *Aeromonas hydrophila* 的最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC), 并采用正交试验法研究了对嗜水气单胞菌具有较强抑制作用的中草药配伍。结果表明, 五倍子、五味子和乌梅对嗜水气单胞菌的抑制作用最强, 最小抑菌浓度和最小杀菌浓度均为 12.5 mg/ml, 可作为防治水产养殖动物嗜水气单胞菌病害的首选中草药。正交试验结果表明, 儿茶、五倍子、五味子和乌梅 4 种药分别以 4:2:4:1 和 1:2:2:4 的比例配伍时对嗜水气单胞菌具有最佳抑菌和杀菌作用。

关键词 水产养殖 中草药 嗜水气单胞菌 最小抑菌浓度 最小杀菌浓度
正交试验

中图分类号 S941.4 **文献识别码** A **文章编号** 1000-7075(2012)01-0114-08

Antimicrobial tests of Chinese herbal medicines and their mixtures on *Aeromonas hydrophila*

ZHANG Wen-qing GONG Yi-fu* JIN Si SUN Zhe-jun
ZHANG Li TONG Li-juan

(Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education; College of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, 315211)

ABSTRACT The minimal inhibitory concentration (MIC) and the minimal bactericidal concentration (MBC) of 86 kinds of Chinese herbal medicines (CHMs) on *Aeromonas hydrophila* were examined *in vitro* by the microdilution method. Then the optimum mixtures of CHMs which can inhibit the *A. hydrophila* were found through orthogonal test design. The result showed that *Galla chinensis*, *Fructus schisandrae* and *Fructus mume* had the strongest inhibitory effect on *A. hydrophila*, with the MIC and MBC as 12.5 mg/ml. In conclusion, *G. chinensis*, *F. schisandrae* and *F. mume* were the better drugs that can cure the disease caused by the *A. hydrophila* in aquatic animals. The results of orthogonal tests showed that the mixture of *Acacia catechu*, *G. chinensis*, *F. schisandrae* and *F. mume* with the proportion of 4:2:4:1 and 1:2:2:4 had the best MIC and MBC on *A. hydrophila*.

KEY WORDS Aquaculture Chinese herbal medicine (CHM) *Aeromonas hydrophila*
Minimal inhibitory concentration (MIC) Minimal bactericidal concentra-

宁波市农业科技攻关项目(2010C10057;2010C91050)和宁波大学学科项目(XKL121;XKL11D2099)共同资助

* 通讯作者。E-mail:gongyifu@163.com

收稿日期:2010-02-09;接受日期:2010-05-25

作者简介:张文青(1985-),女,硕士,主要从事海洋鱼类病害防治及机理研究。E-mail:zwqtkx163.com

tion (MBC) Orthogonal test design

嗜水气单胞菌是一种条件致病菌,感染嗜水气单胞菌的鱼类易出现暴发性出血病,如鲢、鳙的“打印病”(腐皮病),鲤鱼、泥鳅的红斑病,青鱼、草鱼的肠炎和疥疮病,鳊鱼的赤鳍病,牛蛙的红腿病、烂皮病,鲤鱼的竖鳞病,鳖的穿孔病、红脖子病,异育银鲫的溶血性腹水病等(于学辉等 2007;陈翠珍等 2000)。嗜水气单胞菌不仅能使水产动物致病(Swaina *et al.* 2010),还能造成水禽、家畜、人类等的共患病,给人类的健康带来威胁(Kienzle *et al.* 2000)。

目前,人们主要使用抗菌药物来治疗气单胞菌引起的水产动物疾病(曲 芬 2006),抗菌药物在保障水产动物的健康、促进水产动物的生长、提高水产动物的经济效益方面确实起到了积极作用。但是,在水产养殖中长期使用抗菌药物会造成极大的危害。而中草药无抗药性,无残留,无环境污染,不会引发药源性疾病且抑菌杀菌效果明显,已越来越引起人们的关注(程志斌等 2002)。

本研究在借鉴传统中草药理论研究和实践的基础上,筛选出五倍子等 86 种常用中草药,测定中草药对嗜水气单胞菌的体外抑菌作用,从中筛选出对嗜水气单胞菌有较好体外抑制作用的中草药,并采用正交试验设计探讨中草药配伍对嗜水气单胞菌的最佳配伍组合,旨在为由该菌引起的暴发性鱼病防治提供科学的用药依据。

1 材料和方法

1.1 供试菌株及其活化

本研究供试嗜水气单胞菌菌株购于广东省菌种微生物保藏中心,编号为 GIM1.172。将菌种转接于 LB 固体培养基(蛋白胨 10 g,酵母粉 5 g,氯化钠 10 g,琼脂 7 g,加蒸馏水定容到 1 000 ml,pH 7.2),28 ℃培养 24 h 后,挑取单菌落用 LB 液体培养基(蛋白胨 10 g,酵母粉 5 g,氯化钠 10 g,加蒸馏水定容到 1 000 ml,pH 7.2)活化,28 ℃培养 24 h 后用无菌生理盐水稀释至 5.0×10^7 个/ml 菌悬液备用。

1.2 中草药选材及其药液制备

本研究所用五倍子等 86 种中草药均购自宁波市北京同仁堂药店。这 86 种中草药分别是:地榆、石榴皮、枯矾、地肤子、鹤虱、稀签草、半边莲、艾叶、苏子、穿心莲、地锦草、贯众、虎杖片、蛇莓草、使君子、漏芦子、决明子、苦参片、黄柏、功劳叶、千里光、蒲公英、篇蓄、紫苏梗、青蒿、紫花地丁、佩兰、茵陈、夏枯草、石菖蒲、板蓝根、榧子、(生)首乌、白芷、白果、莱菔子、诃子肉、苏子、威灵仙、郁金、鹅不食、白芍、百部、炙没药、龙葵、厚朴、紫苑、儿茶、天南星、五倍子、黄芪、蛇床子、野菊花、大黄(生军)、知母、白鲜皮、甘草、马齿苋、金银花、连翘、马鞭草、白花蛇舌草、(北)柴胡、五味子、覆盆子、白头翁、槟榔、乌药、吴芋、龙胆草、木瓜、(生)苍术、黄芩、芦荟、乌梅、大青叶、鱼腥草、丹皮、牵牛子、牛蒡子、车前草、重楼、公丁香、黄连、(生)莪术、乌柏。

筛选出这 86 种中草药后开始进行中草药药液的制备:86 种中草药各精确称取 30 g,非挥发性块状中草药可直接放到洗净的砂锅中,加入 400 ml 蒸馏水浸泡 30 min 后进行第 1 次煎煮,时间为 30 min。粉末状中药需用纱布包裹起来投入砂锅,加水浸泡 30 min 后进行第 1 次煎煮,30 min 后把上清液倒入另一洗净的砂锅中。在第 1 次煎煮的药渣中加入 200 ml 蒸馏水,待水沸腾后进行第 2 次煎煮,20 min 后把第 2 次煎煮的上清液与第 1 次煎煮的上清液合并,然后用文火加热浓缩上清液至 150 ml。称取的 30 g 中草药溶解在浓缩的 150 ml 药液中,相当于每 ml 药液中含有 200 mg 的中草药。挥发性中草药要注意砂锅的盖子不能掀开,以防有效成分散失。高温灭菌后置 4 ℃冰箱中保存备用。使用前先离心,然后在超净工作台上进行分装。

1.3 二倍稀释法测定最小抑菌浓度和最小杀菌浓度

中草药煎煮液的质量浓度为 200 mg/ml,然后采用二倍稀释法将中草药原液稀释成 100、50、25、12.5、6.25、3.125 mg/ml 共 8 个浓度梯度,设置阴性对照组和阳性对照组。分别向 86 种中草药药液的 8 个浓度梯度中接种嗜水气单胞菌 0.1 ml,置 28 ℃恒温培养 24 h 后观察结果。以肉眼观察不浑浊管的最小药物浓度作

为该药抑制嗜水气单胞菌的最小抑菌浓度。24 h 后无生长的管继续培养 24 h,管内呈澄清状的说明菌被杀死,无细菌生长的最低药液质量浓度为该药抑制嗜水气单胞菌的最小杀菌浓度。

1.4 中草药配伍对嗜水气单胞菌的抑菌效果

为了研究不同中草药配伍对嗜水气单胞菌的最小抑菌浓度和最小杀菌浓度,本研究选用 4 因素 4 水平 L_{16} (4^5)的正交试验设计方法(吴翠珍等 1999)。正交试验中 4 个因素分别是儿茶、五倍子、五味子和乌梅,4 个水平分别是 3.125、6.25、12.5、50 mg/ml(表 1)。以正交试验的 16 种配方(表 2)为母液,采用二倍稀释法研究其对嗜水气单胞菌的最小抑菌浓度和最小杀菌浓度,采用生物统计学方法对正交试验结果进行直观分析和方差分析,分析各因素对嗜水气单胞菌的最小抑菌浓度和最小杀菌浓度的差异显著性。通过正交试验结果找到各因素的最佳浓度配比,并采用二倍稀释法研究最佳中草药配伍对嗜水气单胞菌的最小抑菌浓度和最小杀菌浓度,验证正交试验分析得到的结果。

表 1 正交试验表头设计

Table 1 Design of orthogonal test

水平 Level	儿茶(mg/ml) <i>Acacia catechu</i>	五倍子(mg/ml) <i>Galla chinensis</i>	五味子(mg/ml) <i>Fructus schisandrae</i>	乌梅(mg/ml) <i>Fructus mume</i>
1	3.125	3.125	3.125	3.125
2	6.250	6.250	6.250	6.250
3	12.500	12.500	12.500	12.500
4	25.000	25.000	25.000	25.000

表 2 正交试验表

Table 2 Form of orthogonal test

试验号 No.	儿茶 <i>A. catechu</i>	五倍子 <i>G. chinensis</i>	乌梅 <i>F. mume</i>	五味子 <i>F. schisandra</i>	空白列 Blank	浓度(mg/ml) Concentration
1	1	1	1	1	1	12.500
2	1	2	2	2	2	21.875
3	1	3	3	3	3	40.625
4	1	4	4	4	4	78.125
5	2	1	2	3	4	28.125
6	2	2	1	4	3	40.625
7	2	3	4	1	2	46.875
8	2	4	3	2	1	50.000
9	3	1	3	4	2	53.125
10	3	2	4	3	1	56.250
11	3	3	1	2	4	34.375
12	3	4	2	1	3	46.875
13	4	1	4	2	3	59.375
14	4	2	3	1	4	46.875
15	4	3	2	4	1	68.750
16	4	4	1	3	2	65.625

表 3 中草药对嗜水气单胞菌的最小抑菌浓度和最小杀菌浓度

Table 3 The MIC and MBC of CHMs on *A. hydrophila*

中草药 CHM	最小抑菌浓度 MIC (mg/ml)	最小杀菌浓度 MBC (mg/ml)	中草药 CHM	最小抑菌浓度 MIC (mg/ml)	最小杀菌浓度 MBC (mg/ml)
五味子 <i>F. schisandrae</i>	12.5	12.5	黄连 <i>Thalictrum simplex</i>	50	50
五倍子 <i>G. chinensis</i>	12.5	12.5	乌柏 <i>Sapium sebiferum</i>	50	100
乌梅 <i>F. mume</i>	12.5	25	鹤虱 <i>Carpesium abrotanoides</i>	100	100
威灵仙 <i>Radix clematidis</i>	12.5	25	艾叶 <i>Artemisiae argyi</i>	100	100
儿茶 <i>A. catechu</i>	12.5	25	穿心莲 <i>Andrographis paniculata</i>	100	100
枯矾 <i>Aluminium potassium sulfate dodecahydrate</i>	25	25	虎杖片 <i>Polygonum cuspidatum</i>	100	100
地锦草 <i>Euphorbia humifusa</i>	25	25	蛇莓 <i>Duchesnea indica</i>	100	100
紫花地丁 <i>Viola philippica</i>	25	25	大黄 <i>Rheum palmatum</i>	100	100
夏枯草 <i>Ajuga becumbens</i>	25	25	榧子 <i>Torreya grandis</i>	100	100
诃子肉 <i>Terminalia chebula</i>	25	50	鹤虱 <i>Carpesium abrotanoides</i>	100	100
鹅不食 <i>Centipeda minima</i>	25	25	苏子 <i>Perilla frutescens</i>	200	100
苏子 <i>Perilla frutescens</i>	50	50	吴茱萸 <i>Euodia rutaecarpa</i>	100	100
漏芦子 <i>Rhaponticum uniflorum</i>	50	50	龙胆草 <i>Gentiana scabra</i>	100	100
决明子 <i>Cassia tora</i>	50	50	黄柏 <i>Phellodendri chinensis</i>	100	100
千里光 <i>Senecio scandens</i>	50	50	功劳叶 <i>Mahonia bealei</i>	100	100
板蓝根 <i>Isatis indigotica</i>	50	50	佩兰 <i>Eupatorium fortunei</i>	100	100
木瓜 <i>Chaenomeles speciosa</i>	50	50	茵陈 <i>Artemisiae scopariae</i>	100	100
芦荟 <i>Aloe arborescens</i>	50	50	连翘 <i>Forsythia suspensa</i>	100	>100
公丁香 <i>Syzygium aromaticum</i>	50	50	没药 <i>Commiphora myrrha</i>	100	100

2 结果与分析

2.1 中草药对嗜水气单胞菌的最小抑菌浓度

研究 86 种中草药对嗜水气单胞菌的体外抑菌作用,结果表明(表 3),86 种中草药中有 37 种中草药对嗜水气单胞菌具有不同程度的抑菌作用。五倍子、五味子、乌梅、儿茶、威灵仙等对嗜水气单胞菌抑制作用最强, MIC 均为 12.5 mg/ml。桔矾等对嗜水气单胞菌均有较强的抑制作用,其 MIC 均为 25 mg/ml。苏叶等也有一定的抑菌作用,其 MIC 均为 50 mg/ml。最后,鹤虱等对嗜水气单胞菌的抑制作用不是很明显, MIC 均为 100 mg/ml。半边莲等 49 种中草药在试验浓度下对嗜水气单胞菌均无抑菌作用。根据本研究的体外抑菌结果,作者选用五倍子、五味子、乌梅、儿茶和威灵仙等作为防治嗜水气单胞菌病的首选抑菌药物单方。

2.2 中草药对嗜水气单胞菌的最小杀菌浓度

中草药对嗜水气单胞菌的杀菌作用结果表明(表 3),五倍子、五味子和乌梅对嗜水气单胞菌的杀菌效果最强,其 MBC 均为 12.5 mg/ml。其次,威灵仙等杀菌作用较强,其 MBC 均为 25 mg/ml。而诃子肉等杀菌作用较弱, MBC 均为 50 mg/ml。鹤虱等对嗜水气单胞菌有一定的杀菌作用,其 MBC 均为 100 mg/ml。综合最小抑菌浓度和最小杀菌浓度,五倍子和五味子可作为防治嗜水气单胞菌病的首选杀菌药物单方。

2.3 中草药配伍对嗜水气单胞菌的最小抑菌浓度

采用正交试验设计研究中草药配伍对嗜水气单胞菌的体外抑菌,结果见表 4。直观分析(表 4)可知,儿茶的抑菌影响作用最明显,五倍子的影响作用次之,乌梅的影响作用较弱,五味子的影响作用最差,最优的联合用

表 4 中草药配伍对嗜水气单胞菌 MIC 的正交试验结果

Table 4 The MIC results of CHM compatibility on *A. hydrophila* by orthogonal test

试验号 No.	儿茶 <i>A. catechu</i>	五倍子 <i>G. chinensis</i>	五味子 <i>F. schisandrae</i>	乌梅 <i>F. mume</i>	误差列 Error list	最小抑菌浓度 MIC(mg/ml)
1	1	1	1	1	1	12.50
2	1	2	2	2	2	10.94
3	1	3	3	3	3	10.16
4	1	4	4	4	4	9.77
5	2	1	2	3	4	14.06
6	2	2	1	4	3	10.16
7	2	3	4	1	2	11.72
8	2	4	3	2	1	12.50
9	3	1	3	4	2	13.28
10	3	2	4	3	1	7.03
11	3	3	1	2	4	17.19
12	3	4	2	1	3	5.86
13	4	1	4	2	3	29.69
14	4	2	3	1	4	11.72
15	4	3	2	4	1	17.19
16	4	4	1	3	2	16.41
K ₁	10.84	17.38	14.06	10.45	12.31	
均值 K ₂	12.11	9.96	12.01	17.58	13.09	
Average K ₃	10.83	14.06	11.92	11.91	13.97	
K ₄	18.75	11.14	14.55	12.6	13.19	
极差 R	7.91	7.42	2.64	7.13	1.66	

药组合为 A₃B₂C₃D₁。即儿茶、五倍子、五味子和乌梅的浓度分别为 12.5、6.25、12.5、3.125 mg/ml 混合起来组成的中药配伍对嗜水气单胞菌具有最强的抑菌作用。

方差分析(表 5)可知,儿茶、五倍子和乌梅均达到显著差异,五味子未达到显著差异,其中儿茶为极显著,说明在此配伍中儿茶的影响作用最大,其次是五倍子和乌梅,五倍子在此配伍中的影响作用不显著,和直观分析结果一致。对 A₃B₂C₃D₁(儿茶、五倍子、五味子和乌梅的浓度分别为 12.5、6.25、12.5、3.125 mg/ml 混合药液)进行验证,A₃B₂C₃D₁配伍用药的最小抑菌浓度为 5.86 mg/ml。即儿茶、五倍子、五味子和乌梅以 4 : 2 : 4 : 1 比例混合可作为嗜水气单胞菌抑菌药物的首选配伍组合。

表 5 中草药配伍对嗜水气单胞菌 MIC 的方差分析表

Table 5 The variance analysis of MIC of CHM compatibility on *A. hydrophila*

方差来源 Source of variance	离均差平方和 Sum of square	自由度 Degree of freedom	方差 Variance	F 值 F value	显著性 Significance
A	172.52	3	57.51	31.10	* *
B	131.88	3	43.96	23.78	*
C	22.49	3	7.50	4.05	
D	114.97	3	38.32	20.73	*
空白 Blank	5.55	3	1.85		

表 6 中草药配伍对嗜水气单胞菌 MBC 正交试验结果

Table 6 The MBC results of CHM compatibility on *A. hydrophila* by orthogonal test

试验号 No.	儿茶 <i>A. catechu</i>	五倍子 <i>G. chinensis</i>	五味子 <i>F. schisandrae</i>	乌梅 <i>F. mume</i>	误差列 Error list	最小杀菌浓度 MBC (mg/ml)
1	1	1	1	1	1	12.50
2	1	2	2	2	2	10.94
3	1	3	3	3	3	10.16
4	1	4	4	4	4	19.53
5	2	1	2	3	4	14.06
6	2	2	1	4	3	10.16
7	2	3	4	1	2	23.44
8	2	4	3	2	1	25.00
9	3	1	3	4	2	13.28
10	3	2	4	3	1	14.06
11	3	3	1	2	4	17.19
12	3	4	2	1	3	11.72
13	4	1	4	2	3	29.69
14	4	2	3	1	4	11.72
15	4	3	2	4	1	17.19
16	4	4	1	3	2	16.41
K ₁	13.28	17.38	14.07	14.85	17.19	
均值 K ₂	18.16	11.72	13.48	20.71	16.02	
Average K ₃	14.06	17.00	15.04	13.67	15.43	
K ₄	18.75	18.17	21.68	15.04	15.63	
极差 R	5.47	6.45	8.20	7.03	1.76	

2.4 中草药配伍对嗜水气单胞菌的 MBC

采用正交试验设计研究中草药配伍对嗜水气单胞菌的体外杀菌,结果见表6。直观分析(表6)可知,4个因素的极差从大到小依次为 $R_C > R_D > R_B > R_A$,五味子的杀菌影响作用最强,乌梅的杀菌影响作用较强,五倍子的杀菌影响作用较弱,儿茶的杀菌影响作用最差。从均值来看,最优的联合用药组合为 $A_1 B_2 C_2 D_3$,即儿茶、五倍子、五味子和乌梅的浓度分别为 3.125、6.25、6.25、12.5 mg/ml 混合起来组成的中药配伍对嗜水气单胞菌具有最强的杀菌作用。

方差分析(表7)可知,五味子达到显著差异,儿茶、五倍子和乌梅未达到显著差异,即此配伍中五味子的影响最大。在直观分析中对嗜水气单胞菌杀菌作用的影响强弱依次为 6.25、12.5 mg/ml 混合药液进行验证。验证结果表明, $A_1 B_2 C_2 D_3$ 配伍用药的最小抑菌浓度为 9.77 mg/ml。即儿茶、五倍子、五味子和乌梅以 1:2:2:4 的比例混合可作为嗜水气单胞菌杀菌药物的首选配伍组合。

表7 中草药配伍对嗜水气单胞菌 MBC 方差分析

Table 7 The variance analysis of MBC of CHM compatibility on *A. hydrophila*

方差来源 Source of variance	离均差平方和 Sum of square	自由度 Degree of freedom	方差 Variance	F 值 F value	显著性 Significance
A	93.54	3	31.18	12.60	
B	103.56	3	34.32	13.95	
C	173.10	3	57.70	23.32	*
D	119.17	3	39.72	16.05	
空白 Blank	7.42	32.47			

3 讨论

我国的中草药资源丰富,种类繁多,具有清热解毒或提高免疫力的中草药有 200 多种,参考已经报道的文献,筛选出五味子等 86 种中草药用于嗜水气单胞菌的抑菌实验(赵恒章等 2007)。实验结果表明,86 种中草药中有 37 种中草药对嗜水气单胞菌具有不同程度的抑菌作用,其中五倍子、五味子、乌梅、儿茶、威灵仙等对嗜水气单胞菌抑制作用最强,最小抑菌浓度均为 12.5 mg/ml,五倍子、五味子和乌梅对嗜水气单胞菌的杀菌效果最强,其最小杀菌浓度均为 12.5 mg/ml。曹洪峰等(2007)报道五倍子、石榴皮等对嗜水气单胞菌的抑菌作用极强。高汉娇等(1996)也发现五倍子、乌梅等对嗜水气单胞菌的抑菌作用极强。这几种中药对嗜水气单胞菌都有较强的抑菌效果和杀菌效果,可能与各种药物中所含的活性成分如多糖类、黄酮类等能激活机体的溶菌酶活性和吞噬细胞的吞噬活性有关,但是中草药抑菌的具体作用机理还有待于进一步研究(郑尧兰等 2008)。

利用药物之间的协同作用对两种或两种以上的抑菌药物进行配伍,共同作用于致病菌,对水产动物进行整体治疗(邓家刚等 2009)。基于这个思考,我们从以上具有强抑菌作用的中草药中挑选出 4 种,进一步研究中草药不同比例的混合对致病菌的体外抑菌作用,为中草药配伍的科学性提供实验依据,加速中草药配伍在水产动物疾病防治中的应用。正交试验结果表明,儿茶、五倍子、五味子和乌梅以 4:2:4:1 的比例配伍用药时对嗜水气单胞菌有最小抑菌浓度。张海宾等(2006)在治疗由嗜水气单胞菌引起的鳖的白点病等时选用五倍子、黄连、黄芩等与其他中药组成复合方剂取得了显著的防治效果。

本实验目前只做了中草药以及中草药配伍对嗜水气单胞菌的体外抑制作用研究,研究中草药对感染气单胞菌病害的水产动物的作用还需通过测定水产动物体内一些指标的变化来研究中草药对嗜水气单胞菌的体内抑制作用研究。李笑春等(2006)报道了个别中草药体内外抗菌效果并不一致。在动物体内,药物有效成分被食用的程度、被吸收的程度以及作用的浓度都需要通过大量实验验证。

参 考 文 献

- 于学辉,王远微,汤承,岳华. 2007. 嗜水气单胞菌的研究进展. 西南民族大学学报(自然科学版), 33(3): 507~514
- 邓家刚,覃骊兰. 2009. 试论中药配伍中的中医“和谐”观. 时珍国医国药, 20(2): 503~504
- 曲芬. 2006. 气单胞菌感染的研究进展. 传染病信息, 19(1): 22~23
- 李笑春,黄建国,崔敏. 2006. 三种中草药复方提取物的体外抑菌试验. 甘肃畜牧兽医, (1): 11~13
- 吴翠珍. 1999. 正交设计在中药方剂研究中的重要意义. 山东中医杂志, 18(9): 426~427
- 张海宾,杨桂芳. 2006. 12种中草药对嗜水气单胞菌杀伤能力的研究. 水产科学, 25(1): 16~18
- 陈翠珍,张晓君,房海,何振平,王秀云,巩元芳. 2000. 鱼气单胞菌感染症及其病原的检验与分析. 华北农学报, 15(增刊): 178~184
- 赵恒章,樊金献,余燕,时红攀,李学胜. 2009. 61种中草药对猪致病性链球菌的体外抑菌试验. 黑龙江畜牧兽医, 2: 100~102
- 郑尧兰. 2008. 中草药在鱼病防治中的应用. 渔业致富指南, 1: 56~57
- 高汉娇,林永泰,陈昌福,李明政. 1996. 21种中草药对嗜水气单胞菌的试管内抑菌作用. 水利渔业, (4): 16~17
- 曹红峰,宋靖芳,李国庆,黄文芳. 2007. 中草药对嗜水气单胞菌 ST-3-3 抑菌作用的研究. 中医药导报, 13(5): 86~88
- 程志斌,葛长荣,韩剑众. 2002. 中草药有效成分对动物免疫功能的影响及其应用. 动物科学与动物医学, 19(1): 1~3
- Kienzle, N., Muller, M., and Pegg, S. 2000. *Aeromonas* wound infection in burns. *Burns*, 26(5): 478~482
- Swaina, P., Beheraa, T., Mohapatraa, D., Nandaa, P. K., Nayaka, S. K., Meherb, P. K., and Dasa, B. K. 2010. Derivation of rough attenuated variants from smooth virulent *Aeromonas hydrophila* and their immunogenicity in fish. *Vaccine*, 28(29): 4 626~4 631

《渔业科学进展》编辑部网上投稿启事

为充分利用网络资源,提高编辑办公和期刊出版效率,《渔业科学进展》编辑部已从2010年1月开始采用期刊网络化办公系统。该系统使投稿、审稿和编辑工作都在同一个网络平台上完成,可大大节省通讯时间,并规范编辑工作流程。同时,网络投稿将以更加友好的界面服务于广大作者,方便作者与编审之间的沟通,为您提供易查、易用、更加方便快捷的服务。

敬请作者访问黄海水产研究所网站(<http://www.ysfri.ac.cn>)右下角的“《渔业科学进展》期刊网上投稿系统”。投稿程序请参看《渔业科学进展》网络化稿件处理系统作者使用指南。

如有疑问,请致电 0532-85833580 陈严老师或 0532-85800117 王建坤老师咨询。也可发邮件到《渔业科学进展》编辑部咨询,E-mail: chenyan@ysfri.ac.cn。

《渔业科学进展》编辑部

2012年2月20日