

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.04.10

新肝宝对鲢爱德华氏菌感染黄颡鱼的保护作用研究

喻运珍^{1,2}, 余少梅², 袁改玲³, 邓平¹, 张立强¹,
罗杨志², 胡少迪², 丁桂珍¹, 程颖红¹

(1. 武汉市农业科学院, 武汉 430207; 2. 武汉中博水产生物技术有限公司, 武汉 430207; 3. 华中农业大学, 武汉 430070)

[收稿日期] 2019-12-05 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 04-0056-07 [中图分类号] S853.7

[摘要] 为了考察新肝宝对鲢爱德华氏菌感染黄颡鱼的保护作用, 采用不同粉碎粒度的新肝宝拌饲投喂 7 d, 随后用鲢爱德华氏菌腹腔注射感染, 观察死亡率、酶学指标及组织病理变化。结果显示, 新肝宝组死亡率(48.57% 和 44.28%) 低于阴性对照组(54.29%), 溶菌酶及超氧化物歧化酶活性显著高于对照组($P < 0.05$), 肝脏、肾脏、脾脏损伤情况均小于阴性对照组, 其中 600 目作用效果优于 200 目。结果表明, 新肝宝能够提高黄颡鱼非特异性免疫力, 增强黄颡鱼对鲢爱德华氏菌的抵抗能力, 在一定程度上减轻鲢爱德华氏菌感染导致的肝、脾、肾损伤, 其中 600 目作用效果优于 200 目。

[关键词] 新肝宝; 黄颡鱼; 鲢爱德华氏菌

Study on the Protective Effect of Xin Gan Bao on Yellow Catfish *Pelteobagrus fulvidraco* Infected with *Edwardsiella ictaluri*

YU Yun-zhen^{1,2}, YU Shao-mei², YUAN Gai-ling³, DENG Ping¹, ZHANG Li-qiang¹,
LUO Yang-zhi², HU Shao-di², DING Gui-zhen¹, CHENG Ying-hong¹

(1. Wuhan Academy of Agriculture Science & Technology, Wuhan 430207, China;

2. Wuhan Chopper Fishery Bio-Tech Co., Ltd., Wuhan 430207, China; 3. Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China.)

Abstract: The study was aimed to evaluate the protective effect of Xin Gan Bao on yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) infected with *Edwardsiella ictaluri*. The fish were intraperitoneally injected with *Edwardsiella ictaluri* after feeded with diet containing Xin Gan Bao of 200-mesh and 600-mesh for 7 d. Then the mortality, enzyme activities and histopathology changes were investigated. The results showed that mortalities of Xin Gan Bao groups (48.57% and 44.28%) were lower than that of the negative control group (54.29%). The levels of lysozyme (LZM) and superoxide dismutase (SOD) were higher than that of the control group significantly ($P < 0.05$). The damage of liver, kidney and spleen were lighter than the negative control group. And Xin Gan Bao of 600-mesh had better effect than the 200-mesh. It indicated that Xin Gan Bao could improve the non-specific immunity and resistance to *Edwardsiella ictaluri* of yellow catfish, and reduce the damage caused by *Edwardsiella ictaluri*.

基金项目: 现代农业产业技术体系专项资金资助“CARS-46”; 湖北省科技计划项目(2018BEC482)

作者简介: 喻运珍, 正高职高级工程师, 主要从事中草药鱼药研发工作。E-mail: 717997311@qq.com

infection. And Xin Gan Bao of 600 – mesh had better effect than the 200 – mesh.

Key words: Xin Gan Bao; yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*; *Edwardsiella ictaluri*

黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*), 鲶形目、鲶科、黄颡鱼属鱼类, 在我国主要淡水水域中分布较广, 具有较高的经济价值, 目前我国已形成了较大的养殖规模^[1]。但是随着集约化养殖程度的提高和养殖密度的不断增大, 黄颡鱼病害逐渐增多, 其中鲶爱德华氏菌(*Edwardsiella ictaluri*)引起的“裂头病”或“红头病”危害最为严重, 具有传染性强、发病率高、死亡率高等特点^[2]。鲶爱德华氏菌(*Edwardsiella ictaluri*)是肠杆菌科(Enterobacteriaceae)、爱德华氏菌属(*Edwardsiella*)细菌, 生产上主要通过抗生素药物来治疗^[3]。但是抗生素药物在水产养殖上的长期大量使用会导致很多问题, 抗药性、水产品药物残留、影响水体环境微生态平衡, 抑制养殖动物免疫系统^[4]。而中草药具有无残留、毒副作用小、不易产生耐药性等优点, 能够提高机体免疫力、促生长、抗菌、抗病毒, 用中草药代替抗生素防治水产动物疾病是未来的发展方向^[5]。新肝宝, 通用名为肝胆利康散, 由茵陈、大黄、郁金、连翘、柴胡等药材粉碎加工而成, 具有清肝利胆作用, 主治鱼类肝胆综合征^[6]。本研究旨在考察新肝宝预防用药, 能否提高黄颡鱼抗鲶爱德华氏菌能力, 同时比较了不同粉碎粒度(200 目和 600 目)对药效有何影响, 为新肝宝在黄颡鱼鲶爱德华氏菌病防控中的应用提供相关数据参考。

1 材料

1.1 材料和仪器 茵陈、大黄、郁金、连翘、柴胡、栀子、白芍、牡丹皮、藿香, 均购自安徽旭松中药饮片有限公司, 经武汉中博水产生物技术有限公司质检部门按照《中华人民共和国兽药典·2017 年版中药卷》^[6]鉴定合格。新肝宝由以上药材按比例粉碎混合而成, 新肝宝 200 目由武汉中博水产生物技术有限公司生产, 新肝宝 600 目委托山东埃尔派粉体科技股份有限公司生产。

脑心浸液培养基(BHI)购自青岛高科园海博生物技术有限公司, 黄颡鱼商品饲料购自武汉大北

农有限公司, 溶菌酶、超氧化物歧化酶试剂盒购自南京建成研究所。

制料机购自九阳股份有限公司; 生化培养箱, 上海博讯实业有限公司; 超净工作台, 哈尔滨市冬联公司; 小型台式离心机, 德国 Eppendorf 公司; 高压灭菌设备 AMA240 型, 英国 ASTELL 公司; 自动制冰机, 日本三洋公司。

1.2 试验鱼 黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)购自湖北黄优源渔业发展有限公司。选取健康黄颡鱼 280 尾, 体重 25 ± 5 g, 暂养于华中农业大学水产学院健康安全养殖实验大棚, 每天换水 1/3, 控制水温为 26 ℃, 暂养 3 天后驯食, 每天上午 11 点和下午 4 点投喂一次基础日粮, 驯食一周后停食 24 h 开始实验。

1.3 病原菌的培养 鲶爱德华氏菌由中国科学院长江水产研究所提供, 将菌划线接种于 BHI 平板 28 ℃ 培养 48 h, 挑取单菌落于 BHI 肉汤中, 于 28 ℃ 震荡培养箱中培养 48 h, 血小球计数板计数, 调节菌的浓度备用。

1.4 试验饲料制备 试验设计基础料和试验料。将新肝宝 200 目和 600 目粉末分别按 0.1 g/(kg 鱼)加入商品化基础饲料粉末中, 混匀后加入制料机, 以适当比例加水搅拌均匀, 将制备的湿料放暗处风干, 即得试验料。

2 方法

2.1 试验设计 将 280 尾鱼随机分为 4 个组, 分别为正常对照组、阴性对照组、新肝宝 200 目组、新肝宝 600 目组, 每组两个平行, 每个平行 35 尾鱼, 每天换水 1/3。正常对照组和阴性对照组投喂基础饲料, 新肝宝组投喂试验料, 饲料每天按鱼体重的 2% 进行投喂, 上午 11 点和下午 4 点各投喂一次。

投喂 7 d 后停食 24 h 进行人工感染, 预试验确定鲶爱德华氏菌感染浓度为 3×10^7 CFU/mL(半致死浓度)。阴性对照组和新肝宝组每尾黄颡鱼从腹鳍基部进行腹腔注射 100 μL 菌液, 正常对照组每

尾腹腔注射 100 μL 生理盐水,观察各组黄颡鱼死亡情况并记录。分别在感染前和感染后 5 d 取样,每组取鱼 5 尾,取血检测血清指标,解剖取肝、脾、肾做病理切片观察组织学变化。

2.2 酶学指标测定 从黄颡鱼尾静脉取血,37 ℃ 放置 1 h,4 ℃ 过夜,3500 r/min 离心 10 min,吸取上清,-80 ℃ 冷冻备用,溶菌酶、超氧化物歧化酶采用南京建成试剂盒进行测定。

2.3 组织病理观察 分别取黄颡鱼小块肝脏、肾脏、脾脏组织,置于 4% 中性甲醛溶液中固定 24 h。经洗涤、脱水、透明、渗透与包埋后,切成 5 μm 厚薄片,贴片后,用 HE 染色法进行染色,再经脱水和透明后用中性树胶封片,400 倍显微镜下观察。

2.4 数据处理 采用 SPSS20.0 统计软件对所有实验数据进行处理分析,所有数值均以“ $\bar{X} \pm SD$ ”表示,组间比较使用独立样本 t 检验,差异具有显著性时 $P < 0.05$,差异具有高度显著性时 $P < 0.01$ 。

3 结果与分析

3.1 死亡率测定 如图 1 所示,正常对照组从 47 h 开始出现黄颡鱼死亡,5d 共死鱼 3 尾,最终的死亡率为 4.3%;阴性对照组和新肝宝 200 目组经鳃爱德华氏菌人工感染后 5 h 即开始出现死鱼现象,新肝宝 600 目组 25 h 开始出现死鱼,5 d 阴性对照组总死亡率达 54.29%,新肝宝 200 目和 600 目组总死亡率分别为 48.57% 和 44.28%,小于阴性对照组。说明饲喂新肝宝能够增强黄颡鱼抗鳃爱德华氏菌的能力,降低死亡率,且 600 目作用效果好于 200 目。

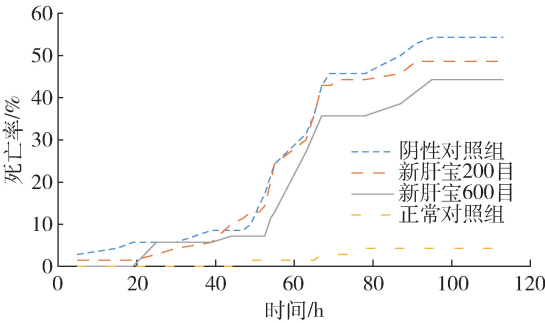
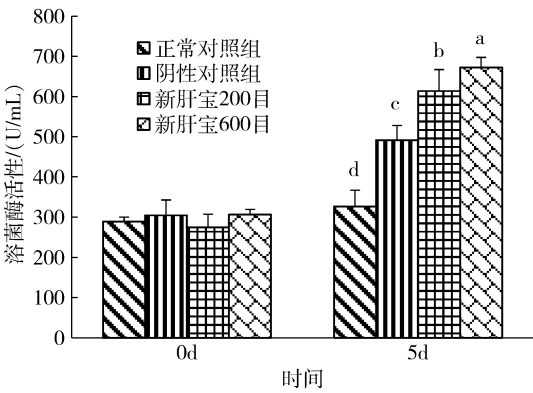


图 1 不同处理组鳃爱德华氏菌感染后黄颡鱼的死亡率

Fig 1 Mortalities of yellow catfish infected with *Edwardsiella ictaluri* in different groups

3.2 血清中溶菌酶含量测定 由图 2 可知,人工感染鳃爱德华氏菌前,各组间溶菌酶活性无显著性差异 ($P > 0.05$),感染后,各感染组溶菌酶活性均升高,新肝宝 600 目组溶菌酶活性 > 200 目组 $>$ 阴性对照组 $>$ 正常对照组,组间差异显著 ($P < 0.05$)。说明饲喂新肝宝可以提高感染爱德华氏菌后黄颡鱼体内溶菌酶活性,其中 600 目作用效果优于 200 目。



注:图柱上标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different letters above bars indicate significant differences ($P < 0.05$).

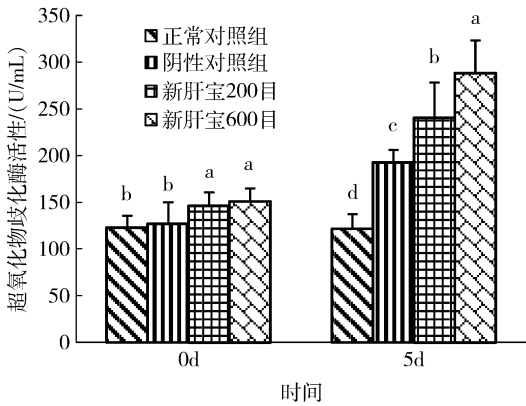
图 2 不同处理组黄颡鱼血清溶菌酶活性变化情况

Fig 2 The changes of LZM activities in serum of yellow catfish in different groups

3.3 血清中超氧化物歧化酶含量测定 由图 3 可知,人工感染鳃爱德华氏菌前,新肝宝组超氧化物歧化酶活性显著高于阴性对照组和正常对照组 ($P < 0.05$),感染后,新肝宝 600 目组超氧化物歧化酶活性 > 200 目组 $>$ 阴性对照组 $>$ 正常对照组,组间差异显著 ($P < 0.05$)。说明饲喂新肝宝可以显著提高黄颡鱼血液中超氧化物歧化酶活性,其中 600 目作用效果优于 200 目。

3.4 病理切片观察结果

3.4.1 肝脏组织 由图 4 可知,正常对照组(a)肝脏细胞结构清晰,沿肝索排列整齐。阴性对照组(b)黄颡鱼肝细胞界限模糊,肝索结构不清晰,有炎症细胞浸润,还可以看到很多红细胞,有充血或出血现象;新肝宝 200 目组(c)没有清晰的中央静脉,



注:图柱上标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

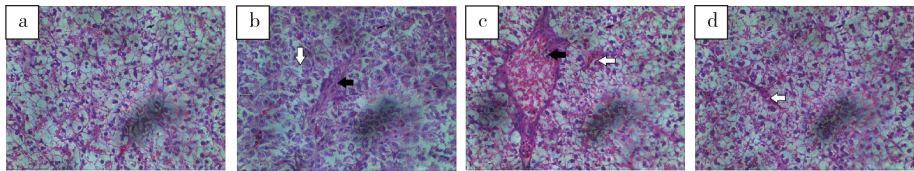
Note: Different letters above bars indicate significant differences ($P < 0.05$)

图 3 不同处理组黄颡鱼血清超氧化物歧化酶活性变化情况

Fig 3 The changes of SOD activities in serum of yellow catfish in different groups

有少量炎性细胞,但肝细胞界限较清晰,肝索结构明显,呈放射状;新肝宝 600 目组(d)肝脏组织结构清晰,细胞排列均匀规则,成放射状围绕中央静脉排列。说明投喂新肝宝能够减轻鲶爱德华氏菌感染引起的肝脏损伤,其中 600 目作用效果优于 200 目。

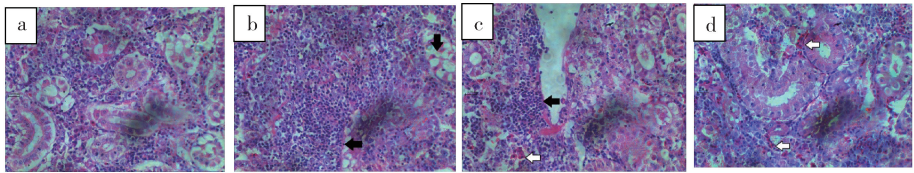
3.4.2 肾脏组织 由图 5 可知,正常对照组(a)黄颡鱼肾脏组织结构清晰,肾小管上皮细胞未见脱落、肿胀。阴性对照组(b)肾脏组织中细胞界限模糊,肾小管上皮细胞有坏死、脱落现象,出现空泡化变性,有大量炎性细胞浸润。新肝宝组(c、d)肾小管和肾小体结构清晰,部分肾小管上皮细胞有坏死、脱落现象,有红细胞充血现象,其中 200 目组(c)有炎症细胞浸润。说明新肝宝能够减轻鲶爱德华氏菌感染引起的肾脏损伤,其中 600 目作用效果略好于 200 目。



a:正常对照组;b:阴性对照组;c:新肝宝200目组;d:新肝宝600目组
“↶”:充血;“↷”:炎症细胞浸润;“↓”:细胞形态消失
a: Normal control group; b: Negative control group; c: Xin Gan Bao group(200-mesh); d: Xin Gan Bao group(600-mesh)
“↶”: Congestion; “↷”: Inflammatory cells infiltration; “↓”: The cell structure disappears

图 4 不同处理组黄颡鱼肝脏病理切片图(×400)

Fig 4 Pathological sections of liver of yellow catfish in different groups (×400)



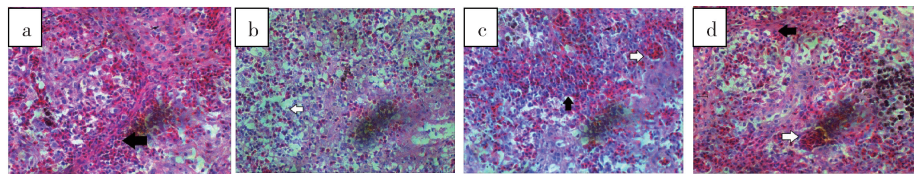
a:正常对照组;b:阴性对照组;c:新肝宝200目组;d:新肝宝600目组
“↶”:充血Congestion;“↷”:炎性细胞浸润;“↓”:细胞结构消失
a: Normal control group; b: Negative control group; c: Xin Gan Bao group(200-mesh); d: Xin Gan Bao group(600-mesh)
“↶”: Congestion; “↷”: Inflammatory cells infiltration; “↓”: The cell structure disappears

图 5 不同处理组黄颡鱼肾脏病理切片图(×400)

Fig 5 Pathological sections of kidney of yellow catfish in different groups (×400)

3.4.3 脾脏组织 由图 6 可知,正常对照组(a)黄颡鱼脾小叶结构清晰,脾脏红髓白髓分界清晰,白髓内淋巴细胞聚集,红髓内弥漫脾血窦,脾小梁形态完整。阴性对照组(b)黄颡鱼脾小叶结构不清晰,结构紊乱,有大量炎性细胞浸润。新肝宝组

(c,d)红细胞数目增多,有充血和出血现象,其中 600 目组(d)脾小叶结构清晰,脾窦和脾索均可见。说明新肝宝能够减轻鲶爱德华氏菌造成的脾脏组织损伤,其中 600 目作用效果优于 200 目。



a:正常对照组;b:阴性对照组;c:新肝宝200目组;d:新肝宝600目组

“←”：脾索；“↖”脾脏组织结构紊乱；“⇨”：充血；“↑”：炎性细胞浸润

a: Normal control group; b: Negative control group; c: Xin Gan Bao group(200-mesh); d: Xin Gan Bao group(600-mesh)

“←”：Splenic cord; “↖” Disorder of spleen tissue structure; “⇨”：Congestion; “↑”：Inflammatory cells infiltration

图 6 不同处理组黄颡鱼脾脏病理切片图(×400)

Fig 6 Pathological sections of spleen of yellow catfish in different groups (×400)

4 讨论与结论

杜宗君等^[3]研究发现鲶爱德华氏菌感染黄颡鱼后,以肝、脾、肾的损伤出现最早、最严重,是其损伤主要的靶器官,感染鱼最终因多组织、器官结构破坏,引起鱼体多器官功能衰竭而死亡。研究中黄颡鱼人工感染鲶爱德华氏菌 5 d 后,感染组黄颡鱼肝脏、肾脏、脾脏均分别出现不同程度的病变,其中新肝宝组黄颡鱼损伤程度明显小于阴性对照组,表明新肝宝对鲶爱德华氏菌造成的黄颡鱼肝、脾、肾损伤有一定的保护作用。同时,溶菌酶是一种水解酶,存在于许多鱼类体表粘液、肠道粘液、血清及巨噬细胞中,具有抗菌抗病毒的功能,是鱼类非特异性免疫的重要组成部分^[7]。超氧化物歧化酶能够清除机体自由基,保护机体细胞免受损伤,是一种重要的抗氧化酶,对机体的氧化与抗氧化平衡起着重要作用^[8]。饲喂新肝宝的黄颡鱼血清中溶菌酶、超氧化物歧化酶活性显著高于阴性对照组,说明新肝宝能够提高黄颡鱼非特异性免疫能力。

新肝宝各药材成分中,茵陈中杜薛花酸、阿魏巧等有抑菌作用;大黄中大黄素具有抑菌、抗炎作用;连翘对多种革兰氏阴性菌、阳性菌、结核杆菌、真菌等有抑制作用;藿香及其提取物对细菌、真菌、

病毒等病原微生物,均具有明显的抑制、灭杀作用;同时茵陈、大黄、郁金、连翘、柴胡、栀子、白芍、牡丹皮均有抗氧化、保肝利胆的作用^[9-17]。因此,在新肝宝各组成药物的在抗菌和保肝功效的共同作用下,可以减轻鲶爱德华氏菌对黄颡鱼机体造成的损伤。

研究表明,茵陈有效成分咖啡酸可增强机体的免疫防御体系;大黄素、大黄多糖对机体免疫系统有双向调节功能;连翘苷可调节免疫功能,并有一定抗应激能力;藿香中百秋李醇具有调节免疫功能的作用;牡丹皮中丹皮酚具有增强细胞和体液免疫的作用^[9,10,11,12,17]。在这几种药物有效成分的共同作用下,起到调节黄颡鱼免疫力的作用。新肝宝中 9 种药材,相辅相成,共同发挥提高免疫力、抗菌、保肝的作用,因此,新肝宝能够提高黄颡鱼非特异性免疫力,增强黄颡鱼对鲶爱德华氏菌的抵抗能力,在一定程度上减轻鲶爱德华氏菌感染导致的肝、肾、脾损伤,故新肝宝可以在黄颡鱼鲶爱德华氏菌病流行期作为预防辅助用药。

此外,研究还发现新肝宝 600 目超微粉作用效果优于 200 目极细粉^[18]。中草药中有效成分一般需经过浸润、溶胀、渗透、分散才能溶出,采用超微

粉碎工艺,细胞破壁率达 95% 以上,消除细胞壁阻力,能够加快溶出速率和溶出量,与传统粉散剂比较,具有有效成分释放快、生物利用率高以及临床应用效果显著等特点^[19-20]。因此,新肝宝临床应用优先选择 600 目超微粉。

综上所述,新肝宝可以在黄颡鱼鲶爱德华氏菌病流行期作为预防辅助用药,且优先选用超微粉。

参考文献:

- [1] 隗黎丽,吴华东,阮记明. 黄颡鱼鲶爱德华氏菌的分离及鉴定[J]. 江西农业大学学报,2014,36(1):187-192.

Wei L L, Wu H D, Ruan J M. Isolation and identification of *Edwardsiella ictaluri* from yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2014, 36(1): 187-192.

- [2] 杜宗君,耿毅,汪开毓等. 黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)爱德华氏菌(*Edwardsiella ictaluri*)感染的动态病理学及病原分布研究[J]. 海洋与湖沼,2013,44(6):1519-1523.

Du Z J, Geng Y, Wang K Y, et al. Dynamic pathology and pathogen distribution study on yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* infected with *Edwardsiella ictaluri* [J]. Oceanologia ET Limnologia Sinica, 2013, 44(6): 1519-1523.

- [3] 耿毅,汪开毓,陈德芳,等. 鲶爱德华氏菌与鲶爱德华氏菌病[J]. 水产科技情报,2009,36(5):236-240.

Geng Y, Wang K Y, Chen D F, et al. *Edwardsiella ictaluri* and edwardsiellosis[J]. Fisheries Science and Technology Information, 2009, 36(5): 236-240.

- [4] 姚晓东. 抗生素在水产养殖中应用存在的问题及对策[J]. 农业与技术,2016,36(24):103.

Yao W D. Problems and countermeasures in the application of antibiotics in aquaculture[J]. Agriculture and Technology, 2016, 36(24): 103.

- [5] 张永刚. 中草药在水产养殖中的应用[J]. 中药材,2017,34(24):69.

Zhang Y G. Application of Chinese herbal medicine in aquaculture[J]. ZHONGYAOCAI, 2017, 34(24): 69.

- [6] 中国兽药典委员会. 兽药质量标准中药卷, 2017 年版[S].

Commission of Chinese Veterinary Pharmacopoeia. Quality Standard for Veterinary Drugs, Traditional Chinese Medicine Volume, 2017 Edition[S].

- [7] 魏世娜,秦启伟. 鱼类溶菌酶和组织蛋白酶研究进展[J]. 广西科学,2018,25(1):32-35.

Wei S N, Qin Q W. Advance on lysozyme and cathepsin of fish [J]. Guangxi Sciences, 2018, 25(1): 32-35.

- [8] 董晓庆. 抗菌肽对建鲤生长性能及免疫功能影响的研究[D]. 长春:吉林农业大学,2015.

Dong X Q. Effects of antimicrobial peptides (AMPs) on growth performance and immune function in Jian Carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2015.

- [9] 农婷婷,何国珍,覃小玲等. 茵陈药理作用的研究进展[J]. 家庭医药,2019,9:10-11.

Nong T J, He G Z, Qin X L, et al. Research progress in pharmacological action of Herba Artemisiae Scopariae[J]. Home Medicine, 2019, 9: 10-11.

- [10] 王丽英,张丽珍,鲁刚英. 大黄药理作用研究进展[J]. 时珍国医国药,2000,11(4):381-382.

Wang L Y, Zhang L Z, Lu G Y. Research progress in pharmacological action of Rhubarb[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2000, 11(4): 381-382.

- [11] 袁岸,赵梦洁,李燕,等. 连翘的药理作用综述[J]. 中药与临床,2015,6(5):56-59.

Yuan A, Zhao M J, Li Y, et al. The review of pharmacological effects of Lianqiao[J]. Pharmacy and Clinics of Chinese Materia Medica, 2015, 6(5): 56-59.

- [12] 杨洪早,王东升,张世栋,等. 广藿香药理作用研究概况[J]. 中国兽医学报,2017,37(9):1807-1810.

Yang H Z, Wang D S, Zhang S D, et al. Research overview on pharmacological activity of Pogostemon cablin, 2017, 37(9): 1807-1810.

- [13] 兰凤英. 郁金的药理作用及临床应用[J]. 长春中医药大学学报,2009,25(1):27-28.

Lan F Y. Pharmacological action and clinical application of Yujin [J]. Journal of Changchun University of Traditional Chinese Medicine, 2009, 25(1): 27-18.

- [14] 孙晓卉,张量. 柴胡药理作用的研究进展[J]. 中国医药导报,2017,14(10):52-55.

Sun X H, Zhang L. Radix bupleuri research progress of pharmacological effects[J]. China Medical Herald, 2017, 14(10): 52-55.

- [15] 刘国敏,郭素华,程维明. 栀子的药理作用及其机制研究新进展[J]. 海峡药学,2008,20(11):8-10.

Liu G M, Guo S H. New progress in pharmacological action and mechanism of Gardenia Jasminoides Ellis[J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2008, 20(11): 8-10.

- [16] 李乃谦. 探讨白芍的药理作用及现代研究进展[J]. 中国临床研究,2017,9(20):137-138.

- Li N Q. A Review on Pharmacological Effects and Modern Research of Baishao[J]. Clinical Journal of Chinese Medicine, 2017, 9(20): 137-138.
- [17] 杨小龙, 张珂, 许俊锋 等. 牡丹皮药理作用的研究进展[J]. 河南科技大学学报, 2012, 30(2): 157-158.
- Yang X L, Zhang K, Xu J F, *et al.* Research on pharmacological activities of Cortex Moutan[J], 2012, 30(2): 157-158.
- [18] 李伟, 李茜, 张海英. 不同粒径参芎散超微粉和细粉溶出度比较[J]. 中医药导报, 2016, 22(6): 58-62.
- Li W, Li Q, Zhang H Y. Comparison of dissolution of Shenli Powder fine powder and its different particle size Ultrafine powder [J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacology, 2016, 22(6): 58-62.
- [19] 金尔光, 陈洁, 何斌, 等. 中草药超微粉在畜禽生产中的应用研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2015, 49(9): 60-64.
- Jin E G, Chen J, He B, *et al.* Research advances in herbal superfine powder on animal production[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2015, 49(9): 60-64.
- [20] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典二部, 2015 年版[S].
- Commission of Chinese Veterinary Pharmacopoeia. The second volume of Veterinary Pharmacopoeia of The People's Republic of China, 2015 Edition[S].

(编辑: 陈希)