

灭螺药筛选与杀螺效果实验观察研究

吴锋^{*} 朱宏儒 杨坤

摘要 目的 寻找和筛选新的高效、低毒又使用方便的杀螺剂,为现场防治提供新的杀螺措施。方法 采集10种除草类药样,分别采用浸泡法、喷洒法和撒粉法进行室内杀螺试验,同时以清水作空白对照。结果 通过初筛和复筛杀螺实验观察,其中浸泡法中显示一定杀螺效果的有A-004、B-008和B-009 3种药样,其24h、48h和72h的 LC_{50} 分别为5.991 mg/L、1.598 mg/L和1.699mg/L;5.449 mg/L、2.728 mg/L和2.257mg/L;5.870 mg/L、3.787 mg/L和1.876mg/L;在喷洒法中显示杀螺效果较好的为B-009药样,其3d、7d和15d的 LC_{50} 为4.949 g/m²、2.415 g/m²和1.701mg/L;而在撒粉法实验中显示较好杀螺效果的A-001和A-002 2种药样,其3d、7d和15d的 LC_{50} 为分别为7.112 g/m²、2.498 g/m²和2.020 g/m²;4.717 g/m²、1.579 g/m²和1.093 g/m²。结论 10种除草类药样在各灭螺方法中均显示了一定的灭螺活性,但在浸泡和喷洒法中,各药样4.0mg/L(g/m²)及以下浓度和剂量的杀螺效果并不理想,其杀螺率一般或较低,而A-001和A-002 2种药样则在撒粉法中显示了较好的杀螺效果,故值得进一步研制和探索。

关键词 灭螺药筛选 浸泡法 喷洒法 撒粉法 钉螺 杀螺率

中图分类号 R184.38 文献标识码 A 文章编号 1009-9727(2012)12-1439-04

Screening of molluscicides and experimental observation on their molluscicidal efficacy. WU FENG, chu Hong-ru, YANG Kun. (Jiangsu Institute of Schistosomiasis Control, Key Laboratory on Technology for Parasitic Diseases Prevention and Control, Ministry of Health, Jiangsu Provincial Key Laboratory on Molecular Biology of Parasites, Jiangsu Provincial Key Subject on Parasitic Diseases, Wuxi 214064, China;Corresponding author:WU Feng,E-mail:wufengwx302@yahoo.com.cn)

Abstract: **Objective** To screen new molluscicides with high efficiency, low toxicity and easy usage in the fields. **Methods** Ten kinds of herbicides were screened by soaking, spraying and impregnating for the efficacy in killing snails while fresh water was used as control. **Results** The molluscicides of Code A-004, B-008 and B-009 showed the molluscicidal efficacy and the LC_{50} of Code A-004 24h, 48h and 72h after experiment were 5.991 mg/L, 1.598 mg/L and that of B-008 were 1.699mg/L;5.449 mg/L, 2.728mg/L and that of B-009 2.257mg/L;5.870mg/L, 3.787mg/L and 1.876mg/L. Code B-009 was the only one had molluscicidal efficacy by spraying, and its LC_{50} 3d, 7d and 15d after experiment were 4.949g/m², 2.415g/m² and 1.701g/m², respectively. Code A-001 and A-002 had molluscicidal efficacy powder, and the LC_{50} of both drugs 3d, 7d and 15d experiment were 7.112g/m², 2.498g/m² and 2.020g/m²;4.717g/m², 1.579g/m² and 1.093g/m², respectively. **Conclusion** All the ten kinds of herbicides had more or less molluscicidal efficacy, but their efficacy by spraying and impregnating with doses of under 4.0mg/L(g/m²) were not ideal..Further observation should be conducted on code 001 and 002 as they both showed molluscicidal efficacy by impregnating.

Key words: Screening of molluscicidal drug; Soaking; Spraying;Impregnating; Snails; Molluscicidal rate

药物灭螺是利用对钉螺具有一定毒性的化学物质,通过适当方式达到杀灭钉螺并具有省时、省力、见效快、可反复使用的特点,是我国目前主要的灭螺方法^[1-2]。国外对药物杀灭钉螺的研制始于20世纪初,而我国研制生产国产灭螺药亦在上世纪50~60年代开始,至今已从2000多种化合物和农药中筛选出多种有效杀螺药,如:杀虫双、溴乙酰胺、烟酰胺(浸螺杀)、杀虫丁、四聚乙醛、硼矿粉等,并在国内许多血吸虫病流行区进行了应用和评估,但由于受其价格、杀螺效果不稳定、污染环境等未能得到全面推广应用

^[3-6]。氯硝柳胺是(WHO)唯一推荐使用的化学杀螺药,但在实际应用中该药易沉淀且有钉螺上爬(逃避)现象,同时价贵、对非靶水生物(鱼类)毒性大等缺陷^[7-9]。因此,筛选、研制和开发新的高效、低毒又使用方便的新型杀螺剂,是当前乃至今后相当长时期内控制消灭血吸虫病流行的重要目标。为此我们采集筛选了新型除草类10种农药(药样)并进行了室内杀螺效果的实验观察研究,结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

基金项目 江苏省医学重点人才(No.RC2011094) 江苏省自然科学基金项目(No.BK2010153)

作者单位:江苏省血吸虫病防治研究所、卫生部寄生虫病预防和控制技术重点实验室、江苏省寄生虫分子生物学重点实验室、江苏省寄生虫病学重点学科 江苏 无锡 214064

作者简介:吴锋(1957~)男 副主任医师,主要从事血吸虫病现场防治和杀螺药筛选研究。

*通讯作者 E-mail wufengwx302@yahoo.com.cn

1.1.1 药物采集 依据高效、低毒、且对环境污染小而少为原则,并排除以往已经筛选过的药品(或化合物),通过查阅文献资料及相关农药信息,本次主要以采集农药除草剂类药样为主,10种药样中5种为粉剂或颗粒剂,5种为液体或乳油,分别采集于本省2个化工和生物农药厂,其分别为A-001(10%可湿性粉类杀虫剂)、A-002(10%颗粒低毒广谱杀虫剂)、A-003(20%可湿性粉类水田除草剂系列)、A-004(30%可湿性粉类水田除草剂系列)、A-005(50%可湿性粉类水田除草剂系列)、B-006(36%乳油除草剂)、B-007(42%乳油除草剂)、B-008(120g/L旱田除草剂系列)、B-009(900g/L旱田除草剂系列)、B-010(900g/L水田除草剂系列)。

1.1.2 钉螺(*Oncomelania hupensis*) 采自江苏省南京市江滩,经室内作适应性饲养3~5 d后挑选活力强,7~8个螺旋的成螺用于实验。

1.2 方法

1.2.1 筛选步骤与实验分组 分为初筛和复筛2个阶段。初筛试验按照各药样实际有效含量确定1.0、10.0和30.0 mg/L 3个浓度组,进行48h和72h浸泡(烧杯)法杀螺效果观察。复筛试验是对初筛杀螺率达80%以上的药样,根据药物实际有效含量确定0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0和32.0mg/L(g/m^2)7个组,分别进行24h、48h和72h(浸泡(烧杯)法)或3 d、7 d和15 d喷洒(瓷盘)法和撒粉法杀螺效果观察。

1.2.2 试验方法 浸泡(烧杯)法为取100ml玻璃烧杯,每杯放入活螺30只,上盖塑料纱网以防止钉螺爬出,加药液100ml,浸泡24h、48h和72h观察钉螺存活情况。喷洒(瓷盘)法为在20cm×25cm的搪瓷盘内铺经20孔/25.4mm金属筛筛过的干燥泥土500g刮平并加水175ml湿润泥土,使泥土含水量控制在35%左右,实验前每盘投入活钉螺30只,自由爬动10~15min,然后将不同剂量药液用浇花壶作均匀喷洒,药液量为1000ml/ m^2 ,喷洒3 d、7 d和15 d后取出钉螺观察死亡情况。撒粉(瓷盘)法为实验环境与用药量同喷洒法,只是本法实验时将不同组别药量直接撒施在试验盘内,于3 d、7 d和15 d后取出钉螺观察死亡情况。上述实验均设清水空白对照组,统一置于空调恒温(25 ± 2)℃环境下进行实验观察。

1.2.3 钉螺死亡鉴别观察 实验结束后取出钉螺并用清水冲洗残留于钉螺体表的药液,然后放入玻璃烧杯并加脱氯自来水20ml饲养2 h,其中爬动钉螺以活螺计并检出,把不活动的钉螺移放至草纸上晾干,第2 d再放入烧杯加脱氯自来水20ml,2 h后用敲击法鉴定死活^[10],结果采用SPSS(13.0)版本统计软件,分别

计算其不同方法、不同时间的钉螺死亡率和 LC_{50} ^[11]。

2 结果

2.1 初筛杀螺效果 在浓度为1.0、10.0和30.0mg/L各观察组中,10种新型农药除草剂药物经浸泡48 h和72 h后,杀螺效果相对较稳定的有A-004、B-008和B-009 3种药样,其杀螺率分别为30.0%~100.0%和56.7%~100.0%,16.7%~96.7%和26.7%~100.0%,30.0%~100.0%和30.0%~100.0%。而其他药样的杀螺率则一般,对照组钉螺死亡率为3.3%~3.3%,见表1。

2.2 复筛杀螺效果

2.2.1 浸泡(烧杯)法效果 对初筛杀螺效果相对较好的A-004、B-008和B-009 3种药样,在浓度0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0、32.0mg/L时,浸泡24h、48h和72h的 LC_{50} 值分别为5.991 mg/L、1.598 mg/L和1.699 mg/L,5.449 mg/L、2.728 mg/L和2.257 mg/L,5.870 mg/L、3.787 mg/L和1.876mg/L,其中48h和72h的 LC_{50} 值明显低于24h,显示了较好的灭螺活性,见表2。

2.2.2 喷洒(瓷盘)法效果 用剂量0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0、32.0(g/m^2)喷洒3 d、7 d和15 d的杀螺效果仅B-009药样相对满意,其杀螺率为3.3%~90.0%、13.3%~96.7%和20.0%~100.0%, LC_{50} 为4.949 g/m^2 、2.415 g/m^2 和1.701 g/m^2 ,95%可信区间分别在3.614~6.884 g/m^2 、1.544~3.522 g/m^2 和1.139~2.360 g/m^2 ,但仍需用4.0 g/m^2 药量喷洒7d才能达到50%以上的杀螺率,而其他药样喷洒杀螺效果较好的只在高剂量组,对照组钉螺死亡率为0.0%~6.7%,见图1。

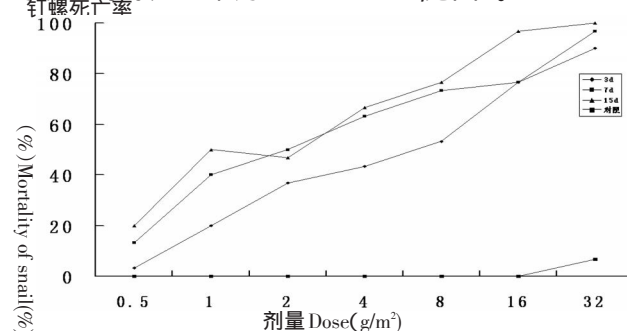


图1 B-009喷洒3d、7d和15d杀螺效果

Figure 1 Molluscicides efficacies of Code B-009 sprayed for 3d, 7d and 15d

2.2.3 撒粉(瓷盘)法效果 杀螺筛选试验观察到A-001和A-002(粉剂和可粒剂)2种低含量药样的水溶性较差,所以其浸泡和喷洒杀螺效果一般,但在撒粉(瓷盘)法杀螺实验中,该2种药物在0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0、32.0 g/m^2 时,撒粉3d、7d和15d的杀螺率分别为6.7~96.7%、10.0~100.0%和16.7~100.0%;6.7~93.3%、6.7~100.0%和20.0~100.0%,清水空白对照组钉螺死亡率为0.0~6.7%,显示了较好的杀螺

效果。

表1 初筛浸泡(烧杯)法杀螺效果

Table 1 Molluscicidal effect of soak-in-beaker for the 1st screening

药物代号 Drug Code	浓度 Concentration (mg/L)	恒温(25±2℃)钉螺死亡率(%) Mortalities (%) of snail in constant temperature (25±2℃)	
		48h	72h
A-001	1.0	10.0	0.0
	10.0	20.0	66.7
	30.0	100.0	100.0
A-002	1.0	16.7	46.7
	10.0	36.7	76.7
	30.0	50.0	80.0
A-003	1.0	16.7	16.7
	10.0	60.0	96.7
	30.0	96.7	100.0
A-004	1.0	30.0	56.7
	10.0	80.0	100.0
	30.0	100.0	100.0
A-005	1.0	10.0	10.0
	10.0	36.7	10.0
	30.0	40.0	30.0
B-006	1.0	20.0	46.7
	10.0	40.0	56.7
	30.0	46.7	70.0
B-007	1.0	10.0	20.0
	10.0	30.0	70.0
	30.0	40.0	90.0
B-008	1.0	16.7	26.7
	10.0	66.7	86.7
	30.0	96.7	100.0
B-009	1.0	30.0	30.0
	10.0	90.0	100.0
	30.0	100.0	100.0
B-010	1.0	6.7	6.7
	10.0	56.7	76.7
	30.0	90.0	100.0
清水对照 Control	-	3.3	3.3

注 (1) 恒温(25±2℃);实验观察螺数每组均为30只。(2) A 为粉剂或颗粒剂;B 为液体或乳油。Note:(1)Constant temperature(25±1)℃; No. of snails examined are 30 in each group.(2)A-powder or granules; B- liquid or cream.

3 讨论

钉螺 (Gredler 1881)是日本血吸虫唯一中间宿主。因此,消灭钉螺是控制和阻断血吸虫病流行最有效的措施。本次筛选的10种新型农药同属除草剂类药物,它广泛用于水田、旱田以及土壤中害虫的防治,

均属高效低毒类新农药。室内杀螺筛选试验表明,无论在浸泡、喷洒和撒粉法中均有一定杀灭钉螺的活性和效果,但击倒力较弱,施药后未见有钉螺逃避(上爬)现象。而在撒粉法杀螺实验中,A-001和A-002(粉剂和可粒剂)2种低含量药样的杀螺实验显示其3d、7d和15d的杀螺率明显高于其他药样浸泡和喷洒的杀螺效果,其 LC_{50} 值分别为7.112 g/m²、2.498 g/m²和2.020 g/m²、4.717 g/m²、1.579 g/m²和1.093g/m²,95%可信区间分别在3.714~17.364 g/m²、1.816~3.348 g/m²和1.520~2.613g/m²;3.589~6.255g/m²、0.417~3.489 g/m²和0.863~1.347 g/m²。

尤其在撒粉7d后的杀螺效果更为显著。实验中还观察到10种新型除草剂农药中除A-001和A-002 2种药样难溶于水外,可能是直接影响其浸泡和喷洒杀螺效果的主要原因外,其余8种药样均易溶于水,且无明显的沉淀现象。

利用现有农药筛选灭螺药物是节省人、财、物和短平快的一种新模式,即通过筛选各种类型药物(化合物或已知有效化合物衍生物)根据其药物的不同作用、协同作用和是否具有提高灭螺效果等,以期从筛选药样中获得线索并发现新药,虽这一方法经实践证明比较有效,但仍带有一定的盲目性,而且费时、费力。近年来,随着分子生物学方法的引入,无疑对寻找灭螺新药具有很大的指导意义,并针对这些靶部位设计新药,不但能节省大量的人力、物力,而且所获得的药物选择性强、不良反应少,是灭螺新药研究的方向^[3]。但要真正开发成功一种新的杀螺剂(药物),可能需要几年甚至十余年或更长时间的不懈努力。

据报道^[12,13],A-001和A-002(粉剂和颗粒剂)2种药样,兼有农药和化肥的功效并对环境安全,既可作为基肥使用,又能杀虫、除草、改良土壤、促进植物生长。因此,值得进一步研制和探索,以期验证该2种产品的确切杀螺效果,为现场缺水江滩和丘陵山区等地区的灭螺提供新的杀螺武器和推广应用打下坚实的基础。

参考文献:

- [1] Disease control department, MOH of PRC. Handbook for Schistosomiasis Control [M]. Shanghai: Shanghai Science & Technology Press 2000 201-202,13. (In Chinese).
(中华人民共和国卫生部疾病控制司.血吸虫病防治手册[M].3版,上海:上海科学技术出版社,2000: 201-202,13) .
- [2] Zhou XN. Science on Oncomelania Snail[M]. Beijing: Science Press, 2005:266-270.(in Chinese).
(周晓农.实用钉螺学[M].北京:科学出版社,2005:266-270).
- [3] Wu Feng (Review).Progress of research on molluscicidal effect of nereistoxin pesticide[J]. Chinese Journal of Schistosomiasis Control, 2007; 19(6):484-484.(In Chinese) .

表2 复筛浸泡(烧杯)法杀螺效果
Table 2 Molluscicidal effect of soak-in-beaker for the 2nd screening

药物代号 Drug Code	浓度 Concentration (mg/L)	恒温(25±2℃)钉螺死亡率(%) Mortalities (%) of snail in constant temperature (25±2℃)		
		24 h	48 h	72 h
A-004	0.5	6.7	40.0	36.7
	1.0	30.0	30.0	23.3
	2.0	30.0	53.3	56.7
	4.0	40.0	66.7	66.7
	8.0	46.7	70.0	73.3
	16.0	46.7	80.0	83.3
	32.0	56.7	86.7	100.0
	95%可信区间(95%CI)	1.974-37.771 mg/L	0.746-2.666 mg/L	0.575-3.301 mg/L
B-008	0.5	6.7	10.0	16.7
	1.0	10.0	26.7	26.7
	2.0	46.7	53.3	50.0
	4.0	50.0	66.7	66.7
	8.0	60.0	73.3	76.7
	16.0	63.3	86.7	86.7
	32.0	80.0	96.7	100.0
	95%可信区间(95%CI)	3.779-8.108	1.819-3.896	1.621-3.030
B-009	0.5	10.0	16.7	23.3
	1.0	26.7	30.0	33.3
	2.0	30.0	33.3	53.3
	4.0	40.0	46.7	60.0
	8.0	43.3	73.3	86.7
	16.0	60.0	90.0	86.7
	32.0	66.7	100.0	100.0
	95%可信区间(95%CI)	2.410-21.459	1.279-10.411	1.296-2.565
清水对照 Control	-	0.0	3.3	6.7

(吴 锋(综述).沙蚕毒系药物灭螺研究进展[J].中国血吸虫病防治杂志 2007 ;19(6) :484-484).

[4] WHO.Schistosomiasis Control[J] . Tech Report Ser,1973,5(15):47-48 .

[5] He CM, Tian ZC, Chen JM, et al. Report on a case successfully rescued from stopping breath due to acute pesticide poisoning[J]. China Tropical Medicine, 2005 ,5(2) :296. (In Chinese)

(何超明 田作春 陈俊敏,等. 急性农药中毒致呼吸停止抢救成功1例报告[J]. 中国热带医学, 2005 ,5(2) :296)

[6] Wu F, Chen YT, Dai JR,et al.The molluscicidal effect of bromoacetamide on oncomelania snails[J] . Chin J Schistosomiasis Control, 1993, 5(3):150-152. (In Chinese)

(吴 锋, 陈云庭, 戴建荣,等 . 溴乙酰胺杀灭钉螺的现场实验观察[J] . 中国血吸虫病防治杂志,1993,5(3):150-152).

[7] Dai JR,Xu NF,Liang YS, et al. Development of anovel suspension concentrate of niclosamide and its molluscicidal effect against oncomelania snails[J]. Chin J Schistosomiasis Control, 2003,15(1) :3-6. ((In Chinese)

(戴建荣,徐年凤,梁幼生,等.氯硝柳胺悬浮剂的研制及其杀螺效果评价[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2003,15(1) :3-6).

[8] Wu ZS,Zhang XS,Xu L,et al.Toxicity of molluscicide residue in soil to snail and fish after soil pasting mixed with niclosamide[J]. Chin J Schistosomiasis Control, 2008,20(6):439-442. (In Chinese)

(吴子松,张晓胜,徐亮,等.氯硝柳胺泥敷灭螺土壤残留药物对钉螺和鱼类的毒性[J].中国血吸虫病防治杂志,2008,20(6):439-442).

[9] Zhu HQ,Zhang GR ,Zhong B, et al.Toxicity of niclosamide with plastic film mulching to fish[J]. Chin J Schistosomiasis Control, 2011,23(1) :38-41. (In Chinese)

(祝红庆,张贵荣,钟波,等.氯硝柳胺加地膜覆盖技术灭螺对鱼毒性的观察[J].中国血吸虫病防治杂志,2011,23(1) :38-41).

[10] Wu F, Jiang YJ, XI WP,et al. Observatton on the molluscicide effect of xinshamindan against oncomelania hupensis in laboratory[J].Chin J Parasitic Dis Control, 2002 ;15(6) :374 -376.(in chinese).

(吴 锋,姜玉骥,奚伟萍,等.新杀螟丹室内杀灭钉螺效果的初步观察[J].中国寄生虫病防治杂志 2002 ;15(6) :374 -376).

[11] Zhang WT ,Yan J. Basic tutorial of Statistical analysis in SPSS [M]. Beijing Higher Education Press, 2004.302-324. (In Chinese)

(张文彤 ,闫 洁.SPSS 统计分析基础教程[M].北京.高等教育出版社 2004.302-324).

[12] Collection of the pesticide management information[M].Edited and published by the Ministry of Agriculture, Beijing(2011). (In Chinese)

(《农药管理信息汇编》[M].北京.农业部农药检定所编辑出版((2011年)).

[13] Zhang YB, Zhang Y. Pesticide[M]. Hebei: China Material Press, 1997.48.(in chinese).

(张一宾,张 恽. 农药[M].河北:中国物资出版社,1997.48).

收稿日期 2012-11-6 编辑 符式刚