

EcM2 与氯硝柳胺联合杀螺作用的研究

洪青标, 周晓农, 孙乐平, 吴 锋, 杨国静

(江苏省血吸虫病防治研究所, 无锡 214064)

摘 要 为研究赤桉提取物(EcM2)与氯硝柳胺及其可湿性粉剂的联合杀螺作用, 采用浸杀法, 将不同浓度的氯硝柳胺、氯硝柳胺可湿性粉剂分别同不同浓度的 EcM2 溶液复配; 并将氯硝柳胺与 EcM2、氯硝柳胺可湿性粉剂与 EcM2 按不同比例混合, 在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温条件下浸泡钉螺 48h 和 72h, 观察钉螺死亡情况。结果显示, 氯硝柳胺与 $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EcM2 配伍后, 其对钉螺 72h 的 LC_{50} 由单用时的 $0.11\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低为 $0.0236\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 增效比为 4.7 倍; 而同 EcM2 按 1:100 和 1:200 的比例混合后, 两药的共毒系数 (CTC) 为 162.9 和 157.2。氯硝柳胺可湿性粉剂与 $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EcM2 配伍后, 其对钉螺 48h 的 LC_{50} 由单用的 $0.19\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低为 $0.074\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 增效比为 2.56 倍; 而同 EcM2 按 1:25 和 1:50 的比例混合后, 两药的共毒系数 (CTC) 为 120.8 和 132.3。共毒系数均超过了 100。研究结果表明, 从赤桉植物中提取的 EcM2 同氯硝柳胺、氯硝柳胺可湿性粉剂配伍混合后, 对钉螺具有较强的联合杀螺作用, 值得进一步研究。

关键词 赤桉; 植物杀螺剂; 氯硝柳胺; 联合作用

杀螺剂的研究与开发, 一直受到国内外学者的重视, 但迄今为止, 理想的杀螺剂仍较少, 且都限于化学合成杀螺剂。现有的几种化学杀螺剂, 如氯硝柳胺、五氯酚钠等, 由于对环境毒性强、价格高等因素, 在推广和使用上受到一定的限制。因此, 国内一些专家正在致力于复方用药或杀螺增效剂方面的研究, 近年来也有一些这方面的报道, 但目前尚未有理想的产品。笔者在开展植物杀螺剂的筛选研究中发现, 赤桉树叶的乙醇提取物与杀螺剂氯硝柳胺复配后, 能起到杀螺增效作用, 因此开展了这方面的室内实验观察。

1 材料与方法

1.1 药物

1.1.1 赤桉提取物 (*Eucalyptus camaldulensis*, 简称 EcM2)

由本所实验室制备, 为赤桉树叶的乙醇提取物, 提取方法文献[4]方法进行。

1.1.2 氯硝柳胺

由江苏省药物研究所实验室合成并提供, 含量大于 98%。

1.1.3 氯硝柳胺可湿性粉剂

以下简称“可湿性粉剂”。由淮南制药厂生产, 含氯硝柳胺乙醇胺盐 49%。

1.2 钉螺

采用湖北钉螺指名亚种 (*Oncomelania hupensis hupensis*)。采自本所养螺沟, 挑选 7~8 个螺旋、活力好的成螺用于实验。

1.3 药液配制

1.3.1 EcM2 配制

取 EcM2 若干, 用去氯自来水配制成 50、33.3、22.2、14.8、9.9 和 $6.6\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 系列浓度的药液备用。

1.3.2 氯硝柳胺药液

取氯硝柳胺若干, 加少量吐温-80 充分搅均后, 加去氯自来水, 配制成 0.225、0.15、0.100、0.067、0.044、0.029 和 $0.02\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 系列浓度的药液备用。

1.3.3 可湿性粉剂药液

取可湿性粉剂若干加去氯自来水充分搅均后, 配制成 0.4、0.27、0.177、0.118、0.079 和 $0.053\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 系列浓度的药液备用。

1.3.4 氯硝柳胺与 EcM2 复配

将 0.100、0.067、0.044、0.029、0.020 和 $0.013\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氯硝柳胺分别与 $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 EcM2 溶液混合组成复配液备用。另外, 将氯硝柳胺与 EcM2 按 1:100 和 1:200 的不同比例混合组成复配液, 并按 1:1.5 的等比稀释成系列浓度药液备用。

1.3.5 可湿性粉剂与 EcM2 复配

将 0.4、0.27、0.177、0.118、0.079 和 $0.053\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的可湿性粉剂分别和 $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 EcM2 混合组成复配液备用; 另外将可湿性粉剂与 EcM2 分别按 1:25 和 1:50 的不同比例混合组成复配液, 并按 1:1.5 的等比稀释成系列浓度备用。

1.4 浸杀钉螺实验

按本所实验室常规浸杀钉螺实验方法进行(每杯放 30 只实验螺, 加 100mL 药液)。在 $25\pm 1^\circ\text{C}$ 的恒温条件下, 浸泡钉螺 48h 和 72h, 用敲击法鉴定钉螺死活并计数。每组实验均用去氯自来水设对照组。

1.5 半数致死浓度(LC_{50})、增效比(SR)和共毒系数(CTC)的计算

LC_{50} 采用点斜法计算。

SR 和 CTC 的计算采用孙云沛等对杀虫剂混配联合作用的计算方法, 即:

$SR = \text{药物独用时的 } LC_{50} / \text{药物在混合剂中的 } LC_{50}$ 。

毒性指数(T) = (标准杀螺剂的 LC_{50} / 供试杀螺剂的 LC_{50}) $\times 100$;

混合剂(M)的实际毒性指数(ATI) = 标准杀螺剂的 LC_{50} / M 剂的 LC_{50} ;

M 剂的理论毒性指数(TTI) = A 剂的 T \times M 剂中 A 的含量 + B 剂的 T \times M 剂中 B 剂的含量;

混合剂的共毒系数(CTC) = (ATI / TTI) $\times 100$

根据 CTC 的大小判断药物联合作用的类型, 即: $CTC > 100$ 为联合作用, $CTC = 100$ 为相加作用, $CTC < 100$ 为拮抗作用。

2 结果

2.1 EcM2 的浸杀钉螺效果

EcM2 在 $50\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时浸泡钉螺 48 h 和 72 h 后, 钉螺的死亡率分别为 96.7% 和 100%; 而在 $9.9\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时, 钉螺死亡率分别为 10% 和 10%; 在 $6.6\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时, 钉螺死亡率分别为 0 和 13.3%。其对钉螺的 LC_{50} 分别为 $20.57\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $17.03\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (表 1)。

表 1 EcM2 浸杀钉螺的效果

药物浓度 /mg·L ⁻¹	观察螺数 /只	钉螺死亡率/%	
		48 h	72 h
50.0	30	96.7	100
33.3	30	80.0	96.7
22.2	30	66.7	76.7
14.8	30	16.7	16.7
9.9	30	10.0	10.0
6.6	30	0	13.3
对照	30	0	0
LC ₅₀		20.57	17.03
(95%可信区间)		(19.37~21.85)	(15.26~19.01)

2.2 氯硝柳胺与EcM2配伍后的杀螺增效作用分析

2.2.1 氯硝柳胺与不同浓度EcM2复配后的杀螺增效作用

单用 EcM2 9.9mg·L⁻¹和单用氯硝柳胺 0.044mg·L⁻¹浸泡钉螺 72h 后,钉螺的死亡率分别为 10.0%和 0,而两药在该浓度下复配后,钉螺死亡率可提高到 90%。进一步分析显示,单用氯硝柳胺浸泡钉螺 72 h 的 LC₅₀为 0.11mg·L⁻¹,而分别同 10mg·L⁻¹和 5mg·L⁻¹的 EcM2 复配后,其对钉螺的 LC₅₀分别降低为0.023 6 mg·L⁻¹和0.062 4 mg·L⁻¹,其 SR 分别为 4.70 倍和 1.78 倍,显示出 EcM2 对氯硝柳胺有较强的增效杀螺作用(表 2)。

表 2 氯硝柳胺与不同浓度 EcM2 复配后的增效杀螺作用

氯硝柳胺浓度 /mg·L ⁻¹	钉螺死亡率/%			
	单用组	+ 10mg·L ⁻¹ EcM2 组	+ 5mg·L ⁻¹ EcM2 组	
0.15	93.3	—	—	
0.10	20.3	93.3	73.3	
0.067	6.7	93.3	33.3	
0.044	0	90.3	26.7	
0.029	6.7	63.3	10.0	
0.020	0	36.7	13.3	
0.013	—	23.3	13.3	
对照	0	0	0	
LC ₅₀ *	0.110	0.023 6	0.062 4	
SR	1.0	4.7	1.78	

* 指混合液中氯硝柳胺的 LC₅₀。

2.2.2 氯硝柳胺与EcM2不同配比混合后的联合杀螺作用

两药经 1:100 混合后浸泡钉螺 48 h 和 72 h,对钉螺的共毒系数(CTC)分别为 157.2 和 156.4;两药经 1:200 混合后浸泡钉螺 72 h,对钉螺的 CTC 为 162.9。CTC 均超过了 100,显示出氯硝柳胺与 EcM2 混配后具有较强的联合杀螺作用(表 3)。

表 3 氯硝柳胺与 EcM2 不同比例混合后的联合杀螺作用分析

氯硝柳胺:EcM2	混合剂中氯硝柳胺的	混合剂中 EcM2 的	混合剂的	氯硝柳胺的 SR	EcM2 的 SR	CTC
	LC ₅₀ /mg·L ⁻¹	LC ₅₀ /mg·L ⁻¹	LC ₅₀ /mg·L ⁻¹			
1:100	0.041 8	4.186	4.228	2.56	4.07	156.4
1:100*	0.047 2	4.718	4.765	2.46	4.36	157.2
1:200	0.028 5	5.704	5.732	3.89	2.99	162.9

* 指 48h 的效果,其余为 72h 的效果。

2.3 可湿性粉剂与EcM2复配后的杀螺增效作用分析

2.3.1 可湿性粉剂与不同浓度EcM2 复配后的杀螺增效作用

单用可湿性粉剂浸泡钉螺 48h 的 LC₅₀为 0.19 mg·L⁻¹,而分别与 10mg·L⁻¹和 5mg·L⁻¹ 的 EcM2 复配后,对钉螺的 LC₅₀分别降低为 0.074mg·L⁻¹和 0.115mg·L⁻¹。其 SR 分别为 2.56 倍和 1.65 倍。显示出 EcM2 对可湿性粉剂具有一定的增效杀螺作用(表 4)。

表 4 可湿性粉剂与不同浓度 EcM2 复配后的杀螺效果

可湿性粉剂浓度 /mg·L ⁻¹	钉 螺 死 亡 率/%			
	单用组	+ 10mg·L ⁻¹ EcM2 组	+ 5mg·L ⁻¹ EcM2 组	
0.40	100	—	—	
0.27	96.7	100	100	
0.177	16.7	93.3	90	
0.118	3.3	86.7	33.3	
0.079	16.7	50.0	20.0	
0.053	—	30.0	13.3	
对照(Control)	0	0	0	
LC ₅₀ *	0.19	0.074	0.115	
SR	1.0	2.56	1.65	

* 指混合液中可湿性粉剂的 LC₅₀。

3.2 可湿性粉剂与EcM2不同比例混合后的联合杀螺作用

可湿性粉剂与 EcM2 分别按 1:25 和 1:50 的比例混合后浸泡钉螺 48h,其对钉螺的 CTC 分别为 120.8 和 132.3, CTC 也均超过了 100。显示可湿性粉剂与 EcM2 混配后,具有联合杀螺作用(表 5)。

表 5 可湿性粉剂与 EcM2 不同比例混合后的联合杀螺作用分析

可湿性粉剂:EcM2	混合剂中可湿性粉剂的	混合剂中 EcM2 的	混合剂的	可湿性粉剂的 SR	EcM2 的 SR	CTC
	LC ₅₀ /mg·L ⁻¹	LC ₅₀ /mg·L ⁻¹	LC ₅₀ /mg·L ⁻¹			
1:25	0.124	3.107	3.323	1.53	6.62	120.8
1:50	0.099	4.900	4.998	1.92	4.20	132.3

3 讨论

在农业等杀虫剂的应用中,常采用联合复配用药以提高药效、降低成本、减轻对环境的污染。在杀螺剂的研究中,国内外对杀螺增效剂或联合用药的研究开展时间较短,仅有少量报

道,而采用植物提取物作为增效剂的报道更少。桉树提取物具有一定的杀螺作用,而进一步的实验表明,氯硝柳胺及其可湿性粉剂在 $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 EcM2 溶液中,可分别增强杀螺作用 4.70 倍和 2.56 倍;氯硝柳胺及其可湿性粉剂分别同 EcM2 按不同比例混合后,其共毒系数(CTC)均超过了 100。表明 EcM2 同氯硝柳胺及其可湿性粉剂配伍后,具有较强的联合杀螺作用,相互间能较显著地提高杀螺作用强度。EcM2 是从赤桉植物中经化学提取的粗提物,对环境毒性较小,其同氯硝柳胺及其可湿性粉剂配伍后,可大大降低两药的用量而起到有效的杀螺作用,因此值得进一步研究。

参考文献

- 1 何昌浩,夏国瑾,李桂玲,等. 1999. 槟榔碱与灭螺药物合用的增效作用研究. 中国血吸虫病防治杂志, 11(4):215
- 2 徐 明,孙乐平,殷旭仁,等. 1998. 八氯二丙醚和氯硝柳胺复方杀螺作用及毒性的观察. 中国血吸虫病防治杂志, 10(1):62
- 3 戴建荣,张燕萍,王 锐,等. 1997. B002 的杀螺效果及其对氯硝柳胺杀螺增效作用的研究. 中国血吸虫病防治杂志, 1997, 9(4):214
- 4 ZHOU X N, Uptham E S, Kruatrachue M, et al. 1993. Effects of niclosamide and *Eucalyptus camaldulensis* on *Biomphalaria glabrata*, the snail intermediate host of *Schistosoma mansoni*. J. Sci. Thailand, 19: 117
- 5 杨树勤. 1985. 中国医学百科全书(医学统计学). 上海:上海科技出版社, 202
- 6 卫生部地方病防治司. 1990. 血吸虫病防治手册. 上海:上海科技出版社, 39
- 7 张瑞亭. 1992. 农药的混用与混剂. 北京:化学工业出版社, 26~27
- 8 魏 芩. 1991. 菊马乳油研制及增效作用研究. 农药, 30(1):13
- 9 陈学仁. 1986. 计算机用于杀虫剂混合共毒系数的计算. 农药, 25(1): 59
- 10 洪青标,周晓农,杭盘宇,等. 1997. 异心叶桉杀灭钉螺效果的初步观察. 实用寄生虫病杂志, 5(3):115

Study on molluscicidal effect of extract of *E. camaldulensis* (EcM2) combined with *niclosamide*

HONG Qingbiao, ZHOU Xiaonong, SUN Leping, WU Feng, YANG Gujing

Jiangsu Institute of Schistosomiasis, Wuxi 214064

Abstract: To study the molluscicidal effect of *Eucalyptus camaldulensis* (EcM2) combined with *niclosamide* and *niclosamide ethanolamine salt wettable powder*, the immersion method was taken. *Niclosamide* and *niclosamide ethanolamine salt wettable powder* of different concentration were combined with different concentration's EcM2 solution respectively, and were mixed with EcM2 in different proportion respectively. The snails were immersed at the condition of constant temperature $25\pm 1^\circ\text{C}$ for 48 hours and 72 hours and then to observe the death of snails. The results showed that the LC_{50} of 72 hours decreased from $0.11\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of single using the *niclosamide* to $0.0236\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ combined with $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EcM2. The synergism ratio is 4.7 times. The cototoxicity coefficient (CTC) of *nilosamide* combined with EcM2 in the proportion of 1:100 and 1:200 is 162.9 and 157.2 respectively. The LC_{50} of 48 hours decreased from $0.19\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of sigle using the *niclosamide ethanolamine salt wettable powder* to $0.074\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ combined with $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EcM2. The synergism ratio is 2.56 times. The CTC of

nicosamide ethanolamine salt wettable powder combined with EcM2 in the proportion of 1:25 and 1:50 is 120.8 and 132.3 respectively. The CTC of all above is over 100. The results suggested that the EcM2 extracted from *E. camaldulensis* combined with *nilousamide* and *nicosamide ethanolamine salt wettable powder* has a strong molluscicidal effect.

Key words: *E. camaldulensis*, plant molluscicide, *nicosamide*, Synergism cobined