

杀虫单和杀虫双联合使用对草鱼车轮虫病的防治效果

董亚萍^{1,2,3}, 孙晶^{1,2,3}, 胡鲲^{1,2,3*}, 杨先乐^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学, 国家水生动物病原库, 上海 201306; 2. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306; 3. 上海海洋大学, 水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心, 上海 201306)

摘要 [目的] 研究杀虫单和杀虫双联合使用对草鱼车轮虫病的防治效果。[方法] 将杀虫单和杀虫双与环烷酸铜、氯化钠、壬基酚聚氧乙烯醚、聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯、十二烷基硫酸钠、壬基酚聚氧乙烯醚硫酸钠、月桂氮酮按不同比例联合配比, 用甲醇和水将其充分混合后制成液体药物, 观察其对草鱼车轮虫的杀虫效果。[结果] 当杀虫单和杀虫双的含量分别为 15.5% 和 34.0% 时, 按 10 mg/mL 的剂量对车轮虫作用 24 h 后其杀虫效果达 100%, 并且在不同用药浓度下其混合药物的杀虫效果要显著高于其他组。[结论] 将杀虫单和杀虫双 2 种药物联合使用可以达到最佳的杀虫效果, 研究结果可为水产养殖中寄生虫病的防治提供用药参考。

关键词 杀虫单; 杀虫双; 草鱼; 车轮虫

中图分类号 S941.5 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)13-0088-02

Study on Control Effect of Combined Use of Monosultap and Dimehypo on Trichodiniasis of Grass Carp

DONG Ya-ping^{1,2,3}, SUN Jing^{1,2,3}, HU Kun^{1,2,3} et al (1. National Pathogen Collection Centre for Aquatic Animals, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 2. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 3. Shanghai Collaborative Innovation Center for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

Abstract [Objective] To study the control effects of combined use of monosultap and dimehypo on trichodiniasis of grass carp. [Method] Monosultap and dimehypo were mixed with copper naphthenate, sodium chloride, nonylphenol polyoxyethylene ether, polyoxyethylene sorbitan monooleate, sodium dodecyl sulfate, nonylphenol polyoxyethylene ether sodium sulfate and l-dodecylazacycloheptan-2-one in different mixing proportions to prepare liquid drugs after they were fully mixed with methanol and water. And their insecticidal effect on *Trichodina* sp. in grass carp was observed. [Result] When the contents of monosultap and dimehypo were 15.5% and 34.0% respectively, the insecticidal effect reached 100% after they were conducted on *Trichodina* sp. at a dose of 10 mg/mL 24 h. The insecticidal effect of mixed drugs at different concentrations was significantly higher than that in other groups. [Conclusion] The combined use of monosultap and dimehypo could achieve the best insecticidal effect, and the research could provide medication reference for the prevention and control of parasitosis in aquaculture.

Key words Monosultap; Dimehypo; Grass carp; *Trichodina* sp.

我国是水产养殖大国, 水产动物寄生虫病是影响水产养殖业经济效益的重要因素之一^[1], 而寄生虫疾病是危害淡水鱼类较为严重的疾病之一^[2], 其中危害较大的水产动物寄生虫有车轮虫、指环虫等。小车轮虫属共有 11 种寄生虫, 其中我国发现 5 种^[3-5]。车轮虫和指环虫可寄生在淡水、海水的各种鱼类, 主要寄生在鱼的体表、鳃(丝)上^[6], 严重时甚至会导致宿主寄生部位发生病变。当车轮虫或车轮虫与指环虫同时在鱼体皮肤和鳃丝上大量寄生时, 不仅会破坏其组织, 而且会严重影响鱼类的正常呼吸, 甚至引起死亡。车轮虫主要危及鱼苗, 同时也容易感染越冬时期和繁殖季节的鱼体^[7], 给水产养殖业造成巨大的经济损失。

杀虫单和杀虫双对水生动物及人畜均没有危害, 具有杀虫效果好、价格低廉等优点。其中, 杀虫单要比杀虫双的杀虫效果好^[8]。随着杀虫单或杀虫双在水产养殖中寄生虫疾病中的大量使用, 其单独使用的杀虫效果也有所减弱。为增强杀虫剂的效果, 降低药物残留, 控制耐药风险, 笔者研究了杀虫单和杀虫双联合使用对草鱼车轮虫病的防治效果, 旨在为水产养殖中车轮虫等原虫引发的疾病提供用药参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物。患有车轮虫病的草鱼 400 尾, 平均体重(20 ± 5)g, 病鱼黑瘦、不摄食, 鱼的鳃和嘴周围呈微白色, 鳃部黏液较多, 鳃丝镜检可发现大量车轮虫寄生(18 ~ 25 个/尾), 虫体较小。将试验用鱼置于 4 L 玻璃容器中, 24 h 增氧, pH 7.0 ~ 7.4。在试验前暂养 15 d。每天投喂 2 次饲料, 参考 NRC 营养标准配制饲料。

1.1.2 试剂。杀虫单(CAS: 29547-00-0)和杀虫双(CAS: 52207-48-4)购自北京市教科生物技术有限公司; 环烷酸铜、氯化钠、壬基酚聚氧乙烯醚、聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯、十二烷基硫酸钠、壬基酚聚氧乙烯醚硫酸钠、月桂氮酮、甲醇均购于国药化学试剂有限公司。

1.1.3 仪器与耗材。光学显微镜、量筒、蒸馏水、玻璃棒、养殖箱等。

1.2 方法 各组杀虫单、杀虫双、环烷酸铜、氯化钠、壬基酚聚氧乙烯醚、聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯、十二烷基硫酸钠、壬基酚聚氧乙烯醚硫酸钠、月桂氮酮、甲醇和水按不同的比例配制(表 1), 每组 20 尾草鱼, 按 6、10、12 mg/L 的浓度分别泼洒到各组中进行试验。分别在 6、12、24 h 和 7 d 后取活体鱼的鳃丝和体表黏液, 制成切片, 在 40 ~ 160 倍显微镜下观察单个视野中车轮虫的存活情况。

1.3 数据分析 杀虫率为 20% ~ 30% 的药物浓度为最低有效浓度; 在鱼未中毒且达到最高杀虫率时的药物浓度为最佳杀虫浓度。按照以下公式计算杀虫率: 杀虫率 = (用药前车

基金项目 上海市地方高校能力提升项目(17050502100); 上海高校知识服务平台建设项目(ZF1206); 国家科技基础条件平台建设运行项目。

作者简介 董亚萍(1991—), 女, 河南新乡人, 硕士研究生, 研究方向: 水生动物医学与药物代谢动力学。* 通讯作者, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事水产动物医学研究。

收稿日期 2018-03-06

轮虫的平均存活数量 - 用药之后车轮虫的平均存活数量) / 用药前车轮虫的平均存活数量 × 100%。

表 1 各组药物溶液的配制

Table 1 The preparation of drug solution in each group

组别 Group	杀虫单 Monosultap	杀虫双 Dimethypo	环烷酸铜 Copper naphthenate	氯化钠 Sodium chloride	壬基酚聚 氧乙烯醚 Nonylphenol polyoxyet- hylene ether	聚氧乙 烯失水山梨 醇单油酸酯 Polyoxye- thylene sorbitan monooleate	十二烷基 硫酸钠 Sodium dodecyl sulfate	壬基酚聚 氧乙 烯醚 硫酸钠 Nonylphenol polyoxye- thylene ether sodium sulfate	月桂氮酮 1-dodecy- lazacycloh- eptan-2-one	甲醇 Methanol	水 Water
对照组(CK)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
组① Group ①	14.00	31.00	0.50	5.00	1.10	0.50	0.35	0.12	0.60	2.10	44.73
组② Group ②	15.00	33.00	0.80	2.20	1.00	0.60	0.30	0.10	0.50	2.00	41.20
组③ Group ③	15.25	33.50	1.00	6.00	1.25	0.80	0.40	0.15	0.65	2.25	39.75
组④ Group ④	15.50	34.00	1.20	6.50	1.50	1.00	0.50	0.20	0.80	2.50	36.30
组⑤ Group ⑤	17.00	36.00	1.50	7.00	1.40	0.90	0.45	0.18	1.00	2.40	32.17

2 结果与分析

不同比例的药物在不同浓度下作用 6、12、24 h 后,使用显微镜观察车轮虫活体数量。与对照组相比,用药组在不同药物浓度下随着时间的增加,其剩余活体虫的数量逐渐减少。根据用药前后的虫体活体数量,计算出不同药物在不同时间的杀虫率。从图 1 可以看出,与其他组相比,24 h 后,当

浓度为 10 mg/mL 时组④的杀虫率达 100%,且组④在不同药物浓度的杀虫率也明显高于其他组。对照组中车轮虫虫体数量随着时间的增加呈现增长状态,虫体在没有用药的情况下,虫体呈正常游动状态,而各用药组的虫体游动异常或游动缓慢。由此可见,无用药组的虫体是不断生长和繁殖的。

■ 对照组 Control group ■ 组① Group① ■ 组② Group② ■ 组③ Group③ ■ 组④ Group④ ■ 组⑤ Group⑤

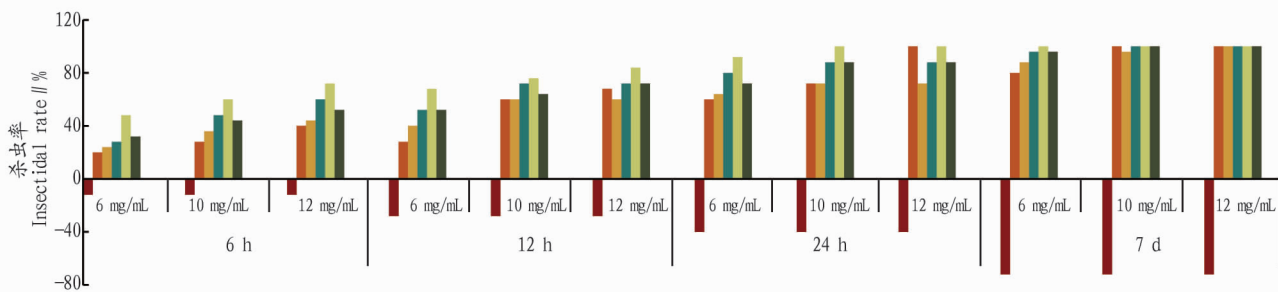


图 1 各组药物杀虫率的比较

Fig. 1 The insecticidal rate comparison of drugs in each group

3 讨论与结论

近年来,水产动物寄生虫病害问题有增无减,几种病并发的状况也时有发生^[9],目前对车轮虫病的防治方法仍然以药物防治为主^[10-11],生产实践中运用各种防治寄生虫病的药物不仅增加了防治难度,而且药物使用安全问题也日益突出。水产养殖中对寄生虫防治的常用药物有消毒剂类、抗微生物类、微生物制剂类、抗寄生虫类、农药类等 9 类^[12-15],其中有机磷类农药在我国农药产量的占比中高达 50%^[16-17]。在使用过程中仅有少部分的药物通过乙酰胆碱酯酶(AChE)等引起神经传导紊乱^[10-11,18],作用于动物的靶细胞达到杀虫效果,但大部分会转至土壤、水环境等。

在水产养殖中过量使用含磷类杀虫药物不仅对水生动物有高毒性,而且还会造成水体污染,引起水生生物体内药物残留超标或急性危害。汪安泰等^[19]研究了硫酸铜、亚甲基蓝以及中性红对车轮虫的防治效果,结果发现硫酸铜相比于后两者对原虫的杀灭作用要强,产生的毒性较高。高莉霞

等^[20]研究了福尔马林、硫酸铜及硫酸亚铁等消毒剂对车轮虫和斜管虫的防治作用,结果发现福尔马林的防治效果显著高于其他 2 种,并且安全浓度为 2 mg/L,在实际生产中的用量可能会高于此浓度。但药物的不恰当使用会引起水产动物正常组织损伤,也在不同程度影响其免疫功能^[21],同时也会产生耐药性。药物的联合使用可以最大程度地发挥单种药物的作用,也可以降低药物的使用量,较少药物残留,降低耐药风险。

杀虫单和杀虫双均具有很强的触杀、胃毒以及内吸传导作用。该试验中当杀虫单与杀虫双的比例为 15.5:34.0 时杀虫效果最优,并且添加 1.2% 的环烷酸铜作为渗透和杀菌剂、6.5% 的无机盐氯化钠,分别添加 1.5% 和 1.0% 的壬基酚聚氧乙醚和聚氧乙醚失水山梨醇单油酸酯作非离子表面活性剂、十二烷基硫酸钠和壬基酚聚氧乙醚硫酸钠作为阴离子表面活性剂添加量分别为 0.5% 和 0.2%,月桂氮酮可

(下转第 97 页)

分泌液对外界 pH 的改变更加敏感所致。

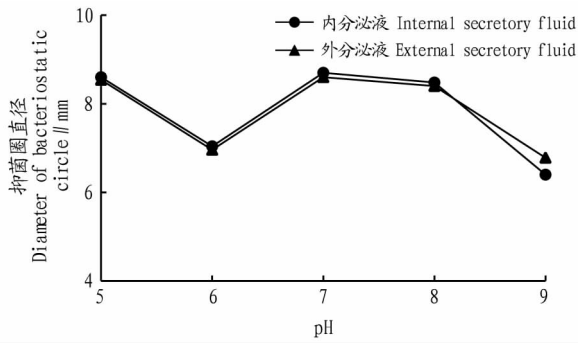


图5 不同 pH 对蚯蚓分泌液抗菌活性的影响

Fig.5 The effects of different pH on the antibacterial activity of secretory fluid

3 讨论与结论

本研究改变了通过在恒温箱内长时间溶解来获取蚯蚓内分泌液的传统方法,采用低温匀浆器研磨,将温度对蚯蚓内分泌液中活性成分的影响降至最低,另外采用一次性针式滤器过滤蚯蚓分泌液,很大程度上排除了外源微生物对试验的干扰,提高了试验结果的准确性。该研究证实了蚯蚓体内外分泌液都具有较强的抑菌效果,但由于采用热刺激法^[14]提取蚯蚓外分泌液,一定会造成蚯蚓外分泌液中抗菌活性物质的损失,总之蚯蚓内分泌液的抗菌效果强于外分泌液,也从侧面说明了温度对蚯蚓分泌液抗菌效果的影响巨大。诱发蚯蚓分泌液发挥最大抗菌效果的环境条件如下:在 30 ℃, pH 7~8 时,蚯蚓内分泌液原液的抗菌效果最佳;在 60 ℃,

pH 为 7~8 时,蚯蚓外分泌液原液的抗菌效果最佳。综上所述,不论是在生产中还是生活中,在对蚯蚓分泌液进行开发利用时,应特别注意外部理化因素尤其是温度对其带来的干扰,选择最优条件,使其发挥出最大作用。

参考文献

- [1] 贾久满,朱莲英,石洪凌. 蚯蚓水解液对大肠杆菌的抑菌效果[J]. 安徽农业科学,2007,35(4):969-971.
- [2] 张希春,孙振钧,嵇如朋,等. 蚯蚓两种抗菌肽的分离纯化及部分性质[J]. 生物化学与生物物理进展,2002,29(6):955-960.
- [3] 贾久满,李成会,张连忠. 蚯蚓浸出液对大肠杆菌抑菌效果的研究[J]. 饲料工业,2006,27(22):60-61.
- [4] 贾久满,郑素玲,李成会. 蚯蚓水解液与浸出液对大肠杆菌的抑菌效果[J]. 饲料研究,2007(10):3-4.
- [5] 郭志坚,郭书好,何康明,等. 黄柏叶中黄酮醇类含量测定及其抑菌实验[J]. 暨南大学学报(自然科学版),2002,23(5):64-66.
- [6] 吕春梅,王琨,邱海龙,等. 稀土硝酸盐对金黄色葡萄球菌抑菌活性实验[J]. 哈尔滨工业大学学报,2005,37(12):1639-1640.
- [7] 常翠,董淳,杨宏图,等. 清喉口含片动物体内、外抑菌实验研究[J]. 中国药房,2006,17(5):336-338.
- [8] 黄敏,颜水楠,桂晓春. 酶的 pH 影响实验中缓冲液配制的改善与优化组合[J]. 职业教育研究,2012(8):136-137.
- [9] 刘兵,夏先林,施晓丽. 蚯蚓体腔液对大肠杆菌抑菌效果试验[J]. 黑龙江畜牧兽医,2008(11):92-93.
- [10] 郑津辉,孟庆恒,王景安. 蚯蚓抗菌肽的提取与抗菌活性研究[J]. 食品研究与开发,2008,29(10):51-53.
- [11] 王德凤,栗朝芝,吴仙. 不同方法提取蚯蚓体腔液对大肠杆菌抑菌效果的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医,2013(15):131-132.
- [12] 戴义传. 关于蚯蚓提取液抑菌作用的研究[J]. 生物学杂志,1989(2):21-23.
- [13] 王庆华,胥清芳,龙李,等. 两种蚯蚓提取物对大肠杆菌的抑菌效果[J]. 黑龙江畜牧兽医,2011(3):131-132.
- [14] 刘艳琴,王东辉,孙振钧. 蚯蚓体腔液及粗组分体外抗菌特性[J]. 家畜生态学报,2004,25(4):51-54.
- [9] 邓志武. 鱼类车轮虫病、指环虫病、烂鳃病和水霉病并发的防治技术[J]. 科学养鱼,2004(5):48.
- [10] 张元园. 氧化乐果对斑马鱼的毒性作用[D]. 青岛:青岛科技大学,2016:3-7.
- [11] BU SIC V, KATALINI C M, SINKO G, et al. Pyridoxal oxime derivative potency to reactivate cholinesterases inhibited by organophosphorus compounds [J]. Toxicology letters, 2016, 262: 114-122
- [12] 杨先乐. 渔药药理学[M]. 北京:中国农业出版社,2011:3-4.
- [13] MADSEN H C K, BUCHMANN K, MELLERGAARD S. Treatment of trichodiniasis in eel (*Anguilla anguilla*) reared in recirculation systems in Denmark: Alternatives to formaldehyde [J]. Aquaculture, 2000, 186: 221-231.
- [14] 李文杰,朱菲莉,赵喜喜,等. 黄颡鱼养殖过程中常见病害及其防治[J]. 水产养殖,2011(8):49-51.
- [15] 王高学,赵云奎,申烨华,等. 25 种植物提取物杀灭鱼类指环虫活性研究[J]. 西北大学学报(自然科学版),2011,41(1):73-76.
- [16] 汤亚飞,王焰新,蔡鹤生. 有机磷农药的使用与污染[J]. 武汉化工学院学报,2004,26(1):11-14.
- [17] 朱松,孙彩霞. 光催化技术在农药处理中的应用[J]. 浙江农业科学,2016,57(8):1251-1254.
- [18] 赵玉琴,李丽娜,李建华. 常见拟除虫菊酯和有机磷农药对鱼类的急性及其联合毒性研究[J]. 环渤海污染与防治,2008,30(11):53-57.
- [19] 汪安泰,朱永友. 水螅体表隐鞭虫、车轮虫的防治[J]. 动物学杂志,1990,34(2):23-25.
- [20] 高莉霞,朱思华,曾可为,等. 福尔马林对鳊鱼苗种车轮虫、斜管虫病的防治研究[J]. 淡水渔业,1992(6):8-11.
- [21] 王权,王建国,陆宏达,等. 硫酸锌慢性毒性胁迫下克氏原螯虾的组织病理[J]. 中国水产科学,2012,19(1):126-137.

(上接第 89 页)

以促进药物快速渗透到机体内,其添加量为 0.8%。混合配制的杀虫药物溶液不仅具有杀虫效果,而且可以净化水质,降低药物对环境造成污染。研究结果可为水产养殖中车轮虫病防治提供用药参考。

参考文献

- [1] AL-RASHEID K A, ALI M A, SAKRAN T, et al. Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) of some River Nile fish, Egypt [J]. Parasitology international, 2000, 49(2):131-137.
- [2] 陈启鑫. 鱼类、蝌蚪和甲壳动物体外寄生车轮虫(Trichodina)的研究[J]. 水生生物学集刊, 1963(3):99-111.
- [3] 陈启鑫. 青、鲢、鳙、鲤等家鱼寄生原生动物的研究 III. 寄生鳃和鳃的原生动物[J]. 水生生物学集刊, 1956(2):279-298.
- [4] 赵元碧,唐发辉,唐安科. 小车轮虫、三分虫种类及周丛小车轮虫种群周年动态:重庆地区淡水车轮虫研究[J]. 重庆师范大学学报(自然科学版), 2007, 24(1):1-6.
- [5] XU K D, SONG W B, WARREN A. Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) from the gills of cultured marine fishes in China, with the description of *Trichodinella lomi* n. sp. [J]. Systematic parasitology, 1999, 42(3):219-227.
- [6] 徐奎栋,孟繁林,宋微波. 鲈鱼的鳃寄生车轮虫病及扫描电镜观察[J]. 青岛海洋大学学报, 2000, 30(3):418-422.
- [7] 刘攀. 江苏射阳地区黄颡鱼鳃车轮虫的形态分类学研究及其防控药物的毒性研究[D]. 上海:上海海洋大学, 2012.
- [8] 吴仲芳. 杀虫单结晶杀虫双高浓度水剂及联合法新工艺[J]. 农药, 1986(2):19-20.