

浸螺杀对鱼类等 水生生物毒性的研究

中国水产科学研究院长江水产研究所
湖北省血吸虫病防治研究所

一九九〇年六月

课题组织单位： 中国水产科学研究院长江水产研究所

课题负责人： 翟良安

课题承担单位： 中国水产科学研究院长江水产研究所

湖北省血吸虫病防治研究所

参加研究人员： 翟良安 倪朝辉 叶雄平 李 谷 赵小春

(长江水产研究所)

黄水生 朱惠国

(湖北省血防所)

研究时间： 1989~1990年

简要说明

《浸螺杀对鱼类等水生生物毒性的研究》是受湖北省血吸虫病防治研究所之托，由中国水产科学研究院长江水产研究所组织并与湖北省血吸虫病防治研究所共同完成的。本研究系国家“七五”攻关项目《新型血防药物研制研究》的重要课题之一。研究自1989年至1990年完成了预计的拟定内容。取得了浸螺杀对四种鱼类鱼苗、甲壳类、贝类、浮游动植物的急性毒作用结果；对生长发育的影响；对鲤鱼生化和血液指标的影响；鱼类胚胎发育与致畸影响和诱发鱼类微核出现率，以及染色体畸变遗传指标等五项成果。达到了预期的目的。

目 录

浸螺杀对鱼类等水生生物毒性的研究

浸螺杀对鱼类等水生生物毒性的研究（总报告）	1
浸螺杀对鱼类等水生生物的急性毒作用研究（材料之一）	25
浸螺杀对鱼类生长影响研究（材料之二）	41
浸螺杀对鲤鱼生化和血液指标影响的研究（材料之三）	49
浸螺杀对鱼类诱变效应的研究（材料之四）	59

（湖北省虫豸生物防治研究所 武汉）

随着科学技术的发展和提高，血防工作的需要，研究高效低毒，对钉螺击倒快的新型灭螺剂已势在必行。新型灭螺剂对水生生物可能带来的危害(1973)对鱼类等水生生物的急性、亚急性、生长影响和诱变效应等综合研究结果，为了解新型灭螺剂对水生生态平衡的影响和对水生生物的安全性评价提供可靠依据。

浸螺杀对鱼类等水生生物毒性的研究

(总 报 告)


翟良安 倪朝辉 叶雄平 李 谷 赵小春

材料和方 法

(中国水产科学研究院长江水产研究所 沙市)

黄水生 朱惠国

(湖北省血吸虫病防治研究所 武汉)

分子式为： (I, 50), 分子量为494.57, 熔点151.4-152°C, 酸度PK为2.0-2.0, 色白或类白色粉状物, 无臭, 味微甜, 易溶于水, 乙醇中微溶, 乙醚中极微溶, 其它表有为磺胺嘧啶(的含药量) 磺胺嘧啶(含量46%以上)。

(1) 试验生物, 详见表1

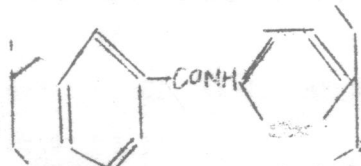
前 言

随科学技术的发展和提高，血防工作的需要，研究高效低毒，对钉螺击倒快的新型灭螺剂已势在必行。新形灭螺剂对水生生物可能带来的危害必须进行生物毒性试验和安全评价。本文报道了灭螺新药浸螺杀（批号8705033）对鱼类等水生生物的急性、亚急性、生长影响和诱变效应等综合研究结果，为了解浸螺杀对水生生态平衡的影响和水生生物的安全性评价提供可靠依据。

材 料 和 方 法

一、材料

(一)浸螺杀 由湖北省医药工业研究所研制并提供。经湖北省血防所等灭螺试验，具有用量小、击倒快、优于五氯酚钠等传统的血防药物。浸螺杀是一种复合药物，其主要成份为硫酸烟酰胺苯胺 (Liusan Yanxianbenan) 含量26.19%，化学名称为Nicotinitidi Sulfas (吡啶3-甲酰替苯胺硫酸盐)。

分子式为：，分子量为494.52，熔点151.6-152℃；酸度PH为2.0~3.0。色白或类白色粉状物，无臭，味微苦，易溶于水，甲醇中略溶，乙醇中极微溶。其它成份为硫酸铜(约含25%)和硫酸胺(含量40%以上)。

(二)试验生物，详见表1

表1 试验用水生物表

试验内容	生物名称	拉丁文(学名)	规格	来源
急性 毒性 试验	鲤鱼苗	<i>Cyprinus Carpio</i>	2.0±0.5cm	本所试验场
	鲤鱼种	" "	6±0.5cm	" "
	白鲢鱼苗	<i>Hypophthalmichthysmotilrie</i>	2.8±0.3cm	" "
	白鲢鱼种	" "	110±0.5cm	" "
	草鱼苗	<i>Tenopharrgodon idellus</i>	2.3±0.5cm	" "
	日本沼虾	<i>Maerohrechiwm nipponense</i>	1.0±0.5cm	" "
	湖螺	<i>Viviparus guodratus</i>	成体螺	" "
	黄鳝	<i>Monopterus albus</i>	23±0.5cm	市场
			20±2g	" "
		大型蚤	<i>Danhnia magna</i>	3~4日龄
	浮游藻	<i>Chlorella</i> 、 <i>scenaesmusobliquas</i>	1×10 ⁶ 个/升	实内培养
生化血液 试验	鲤鱼	<i>Cynrinus carpio</i>	0.4kg/尾	本所试验场
生长 试验	鲤鱼苗	<i>Cyprinus Carpio</i>	1.63cm	" "
	草鱼苗	<i>Tenopharrgodon idellus</i>	2.20cm, 0.21g	" "
	白鲢苗	<i>Hypophthalmichthysmotilrie</i>	1.72cm, 0.10g	" "
致突变 试验	黄鳝	<i>Monopterus albus</i>	19.5g	市场
	白鲢	<i>Hypophthalmichthysmotilrie</i>	13.2±2.5cm	本所试验场
			65.5±10.8g	" "
	草鱼	<i>Tenopharrgodon idellus</i>	10.2±1.8cm	" "
18.5±6.4g			" "	
胚胎发育	白鲢	<i>Hypophthalmichthysmotilrie</i>	原肠中	

二、方法

1. 急性毒性试验

胚胎发育和大型蚤试验用直径12.8cm的玻璃培养皿，各浓度盛试液200ml，并设对照组和平行组（以下同），每皿放卵20粒、大型蚤10只；鱼种（夏花）、黄鳝、日本沼虾、湖螺等用内径23cm、高12.5cm的圆形玻璃缸，盛试液3升，每缸放生物10尾（只）；光合作用抑制率用内径15cm、高12cm玻璃缸盛试液1升，藻量 1×10^6 细胞/升，光强2500Lux，光照6小时；大规格鱼种用大型水箱盛试液40升，放鱼各10尾，按我国毒性试验暂行规定，参照美国废水试验标准方法进行试验^[2]（详见分报告）。试验期间观察生物存活情况，鱼类等水生生物用冠氏法或概率单位法计算Lc50值及90%可信限，胚胎发育计算“三率”，光合作用按公式 $= (1 - q) \times 100$ 计算抑制率。当q值 $> 50\%$ 时，视有危害浓度。

2. 鱼类生长影响试验方法

在急性致毒试验基础上，设96hr-Lc50、1/5 96hr-Lc50、MNC（最大无作用浓度）和1/10 96hr-Lc50四浓度，另设对照和平行组，配液各10升于大型玻璃缸中，并各放鱼种10~20尾，每天投饵，用增氧和换水保持足够的DO和药物浓度。观察行为、存活，试验第30天测定每尾鱼生长参数，与对照组比较。

3. 生化和血液学试验，试验浓度为3.81ppm（可能接触的野外灭螺浓度）、1.12ppm、0.69ppm（MNC）、0.16ppm和0.00ppm（对照组），各设平行组，试验在大型玻璃水族箱中进行，每浓度500升，每箱放鱼16尾。观察鱼的行为，并在第四天、第五天、第十五天，各取鱼3尾，共计15尾，每尾鱼静脉针刺采血，分别测定血红蛋白（Hb），红血球（RBC）和白血球（WBC），并经2000转/分离心制备血清测定碱性磷酸酶（AKP）、谷丙转氨酶（sGPT）

胆碱酯酶 (che) 的活性。测定方法为: AKP, 磷酸苯二钠法; SGPT, 改良穆氏法; che 溴麝香草酚兰 (B、T、B) 一纸法法。Hb, 酸化血红蛋白稀释法 (改良 Shalis 法); RBC 和 WBC 为显微计数法。

4. 诱变效应试验方法

本试验分微核出现率试验和染色体畸变试验两种。微核出现率试验分别按: 鳙鱼 96hr-Lc50 的 80%、40%、1.0ppm 为高中低浓度, 并以 0.2ppm 丝裂霉素 C (MMC) 为阳性对照及空白对照 (以下同) 和白鲢 1/1096hr-Lc50、MNC、1.0ppm 为低中高浓度组, 以 10.0ppm 重铬酸钾为阳性对照。染毒后第八天收集鱼尾静脉血液涂片, 甲醇固定, 30% Giemsa 染色, 镜检, 每浓度数 2.0×10^6 个细胞, 统计微核细胞率 (%), 并进行 t 检验; 同样方法计算白鲢微核细胞率。草鱼染色体畸变试验按 1.0ppm、96hr-Lc50、1/896hr-Lc50 为高、中、低浓度, 5ppm 重铬酸钾为阳性对照组。第七天以每克鱼注射秋水仙毒 3ug 后 4 小时处死鱼, 取肾脏制成悬浊液, 再按常规涂片镜检, 以 t 检验与对照组比较。

5. 试验用水为经曝气的、水源为长江的自来水, 其中 $DO > 7.60$ ppm、PH 值 7.5~8.0, 硬度 4.6 德国度、电导率 200us/cm。

结果与分析

一、毒性毒作用试验结果

(1) 浸螺杀对鱼类等急性致毒结果见表 2、表 3、表 4 和图 1。

由表 2 知, 小规格的鲤鱼苗、草鱼苗、白鲢苗种; 大规格鲤鱼种、白鲢鱼种和黄鳝 96hr-Lc50 \times 0.1 分别为 0.16、0.191、0.27、1.12、0.39 和 2.20 ppm。其中 0.16ppm 对各种鱼都是安全的 (含硫酸盐烟酰胺苯胺纯品 0.045ppm)。此浓度按《鱼类毒性试验暂行规定》对鱼类应属中等毒性范围。由表 3 可

表2 浸螺杀对鱼类急性毒性作用结果

时间	半致死浓度 及置信区间	被 试 生 物					
		鲤鱼苗	草鱼苗	白鲢苗	鲤鱼种	白鲢鱼种	鳊鱼
24hr	Lc50	1.76	3.74	4.12	23.56	17.22	202.48
	95%置信区间	1.36~2.25	3.09~4.50	3.51~4.77	17.39~31.06	14.2~21.4	171.44~239.18
48hr	Lc50	1.72	3.44	3.63	12.68	—	—
	95%置信区间	1.30~2.10	2.83~4.26	3.17~4.12	10.96~14.70	—	—
72hr	Lc50	1.64	2.44	3.55	11.23	9.24	30.51
	95%置信区间	1.30~2.06	1.99~2.98	3.09~4.08	9.13~13.78	7.18~11.87	24.93~37.30
96hr	Lc50	1.60	1.91	2.71	11.23	8.90	21.95
	95%置信区间	1.26~2.06	1.53~2.37	2.33~3.17	9.13~13.78	6.98~11.34	17.6~27.42
	安全浓度	0.16	0.19	0.27	1.12	0.89	2.20

表3 浸螺杀对日本沼虾、大型蚤、湖螺急性毒作用结果

被试生物	日本沼虾	大型蚤	湖螺
96hr Lc50	1.64	0.50	0.37
95%置信区间	1.25~2.16	0.31~0.80	0.24~0.57
安全浓度	0.164	0.05	0.037

表4 浸螺杀对藻类光合作用抑制试验结果

视验浓度 (ppm)	溶解氧(ng/L)		光合作用抑制率(q)
	q ₀	q ₁	$(1 - \frac{q_1}{q_0}) \times 100\%$
0.00	6.6	8.5	-29
0.32	6.6	8.5	-29
0.69	6.6	8.0	-21
1.22	6.7	8.0	-19
2.16	6.4	3.2	50
3.81	6.5	3.2	50.8

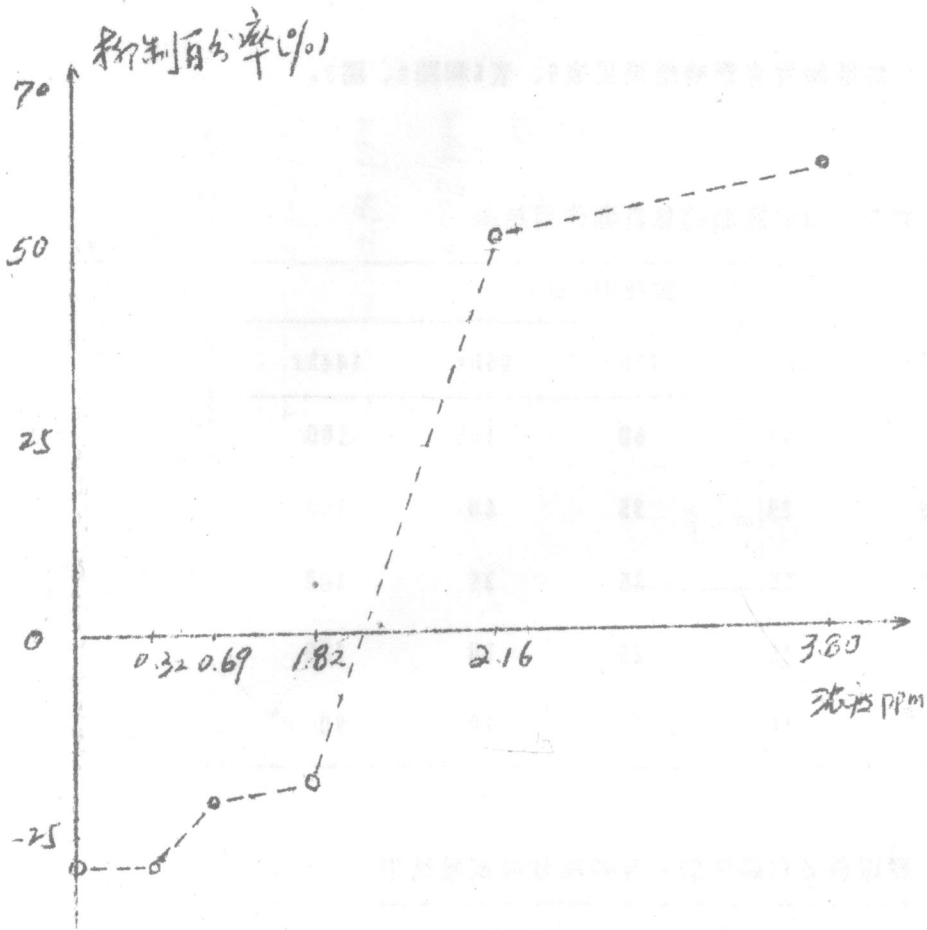


图1.藻类光合作用抑制图

见，浸螺杀对日本沼虾、大型蚤、湖螺的安全浓度（96hr-Lc50×0.1）分别为0.164、0.05和0.037ppm，结果表明浸螺杀对日本沼虾的毒性与鱼类相同，对大型蚤的毒性大于鱼类，对湖螺的毒性最大，表现出较高的灭螺活性和血防价值。由表4知浸螺杀2.14ppm以上对藻类生长是有拟制作用的。低于2.14ppm的浓度对藻类生长没有明显影响。即浸螺杀浓度<2.16ppm对浮游藻类生长没有抑制作用，其中浓度0.69和0.32ppm还能促进水生绿藻的发育和生长。

2. 浸螺杀对白鲢胚胎发育影响结果见表5、表6和图2、图3。

表5 白鲢胚胎的急性毒作用结果

浓 度 (ppm)	致死率(%)				
	24hr	48hr	72hr	96hr	144hr
19.09	30	40	60	100	100
8.74	15	20	35	60	100
7.18	15	15	25	35	100
5.92	20	25	25	30	100
4.89	5	10	10	10	90

表6 浸螺杀对白鲢胚胎发育致畸效应试验结果

浓度(ppm)	0.38	0.21	0.068	0.038	对照
畸胚率(%)	100	33.9	72.2	66.7	0

胚胎试验结果表明其敏感期在原肠期到眼晶体形成阶段, 然后出现胚胎对浸螺杀的低敏感期。但到稚鱼期又表现出对浸螺杀的敏感性。且这种敏感性与毒物浓度呈正相关(见图2)。由表5知, 胚胎发育阶段对毒性耐受性大于出膜后的稚鱼期, 所以有的胚胎尽管发育到了出膜, 但到了稚鱼阶段还是全部死亡, 表现了浸螺杀对胚胎发育的整个阶段毒性是较强的。从表6可知浸螺杀对胚胎有较强的致畸性, 并表现出明显的滞育效应(见图3)

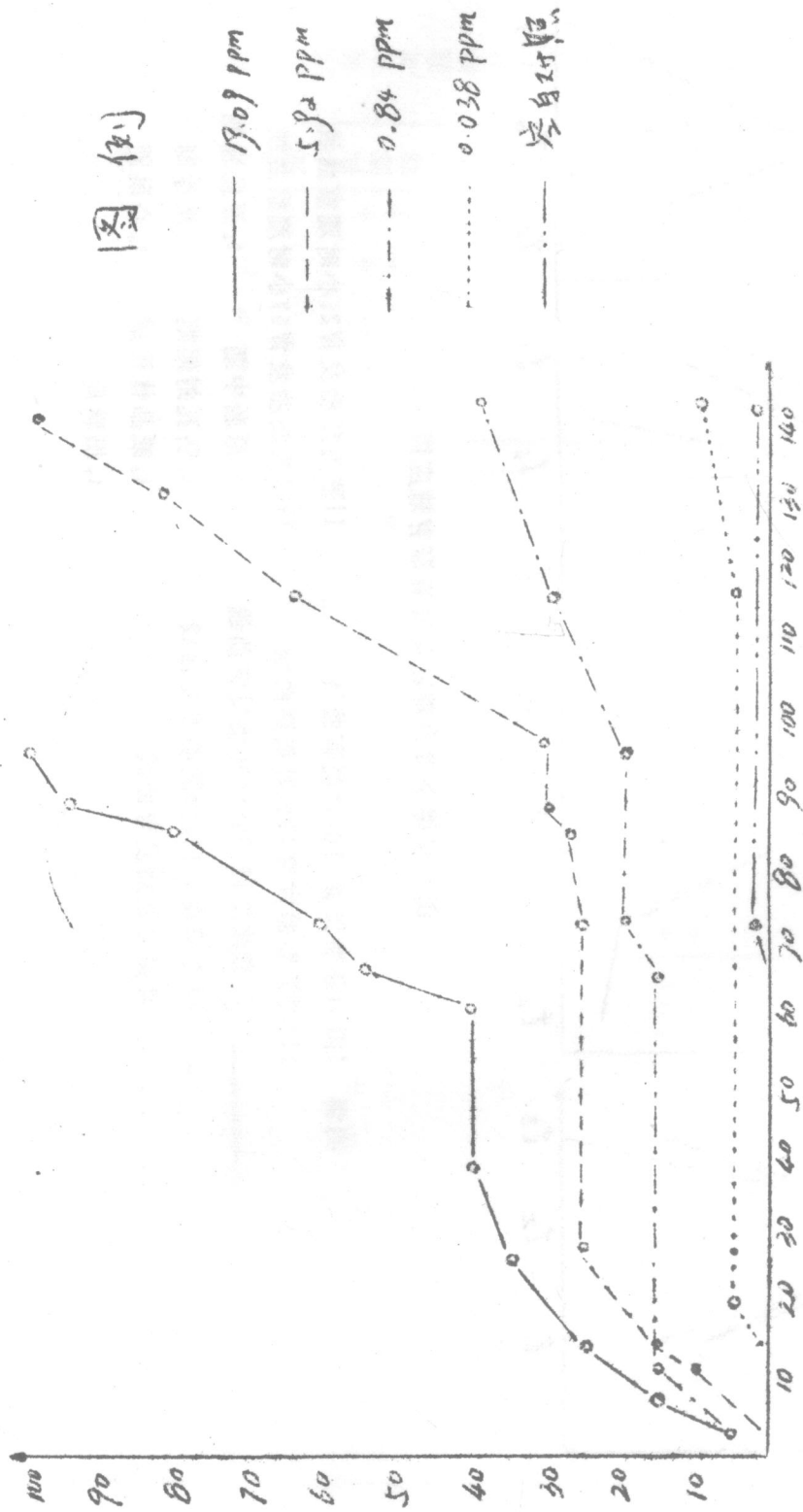


图2. 浸螺杀对白蛙胚胎的死亡率影响曲线图

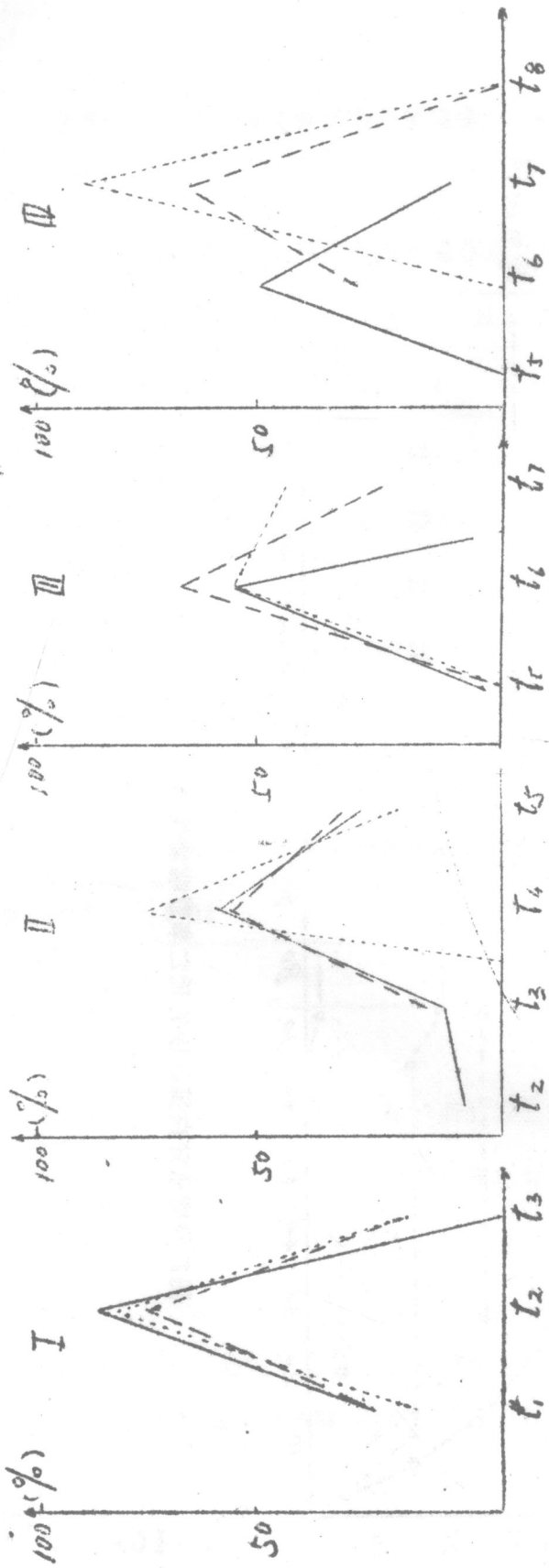


图3. 浸螺杀对白链胚胎发育滞育效应图

- 图例 I 图为胚胎发育13小时观察曲线
 III 图为胚胎发育48小时观察曲线
 染毒浓度19.09ppm 胚胎发育曲线
 染毒浓度4.12ppm 胚胎发育曲线
 对照组胚胎发育曲线
- II 图为胚胎发育25小时观察曲线
 IV 图为胚胎发育57小时观察曲线
 t₁ 原肠中期 t₂ 原肠晚期
 t₃ 胚孔封闭期 t₄ 尾芽期
 t₅ 眼晶体形成 t₆ 心跳期
 t₇ 出膜期

3. 浸螺杀对鱼类生长影响的试验结果见表7、表8、表9。

表7 浸螺杀对鲤鱼生长试验显著性检验 (t值)

浓度组	比较参数	试验前	试验对照组	0.1LC50	1/5LC50	MNC
对照组	l_1	++				
	l_2	++				
	h	++				
	w	++				
	q	++				
0.1Lc50	l_1	++	-			
	l_2	++	-			
	h	++	+			
	w	++	-			
	q	++	++			
1/5Lc50	l_1	++	-	-		
	l_2	++	-	-		
	h	++	-	-		
	w	++	-	+		
	q	++	++	++		
MNC	l_1	++	-	-	-	
	l_2	+	-	-	-	
	h	++	+	++	++	
	w	+	-	++	+	
	q	++	++	++	++	
Lc50	l_1	++	-	-	-	-
	l_2	++	-	-	-	-
	h	-	++	++	++	++
	w	-	++	++	++	++
	q	++	++	++	++	++

表8 浸螺杀对草鱼生长试验显著性检验 (t值)

浓度组	比较参数	试验前	试验对照组	0.1LC50	1/5LC50	MNC
对照组	l_1	++				
	l_2	++				
	h	++				
	w	++				
	q	-				
0.1Lc50	l_1	++	++			
	l_2	++	++			
	h	++	++			
	w	++	++			
	q	-	+			
1/5Lc50	l_1	++	++	-		
	l_2	+	++	-		
	h	++	++	-		
	w	++	++	-		
	q	-	++	-		
MNC	l_1	++	++	-	-	
	l_2	++	++	-	-	
	h	++	++	-	-	
	w	++	++	-	-	
	q	-	+	-	-	
Lc50	l_1	++	++	++	++	++
	l_2	+	++	++	-	+
	h	-	++	++	++	-
	w	++	++	++	++	++
	q	-	++	-	-	+