

茶皂素在血吸虫病防治上的应用研究

I. 茶皂素对血吸虫中间宿主钉螺的杀灭效果

张楚霜 周利红 朱金华

(湖南省寄生虫病防治研究所, 岳阳 414000)

夏春华 朱全芬 柳荣祥

(中国农业科学院茶叶研究所, 杭州 310008)

提要 用茶皂素对日本血吸虫中间宿主钉螺进行杀灭试验, 初步结果表明, 不同产地的茶皂素浸杀成螺、幼螺、螺卵均有较好的杀灭效果。其中, 茶皂素 I 2.5mg/L, 茶皂素 II, III 5.0mg/L, 浸杀钉螺的效果均为 100%。喷杀成螺所需浓度较高, 效果也稍差。茶皂素对淡水鱼类虽有一定的毒性, 但比氯硝柳胺毒性低得多; 茶皂素 I 在 1.6mg/L 以下, 茶皂素 II, III 在 4.0mg/L 以下, 水温在 28℃, 48h, 鲢鱼全部存活。茶皂素资源丰富, 价格低廉, 对环境无污染, 是具有开发前景的植物杀螺剂。文中还对不同产地的茶皂素的毒性差异原因、使用浓度和方法进行了讨论。

关键词 茶皂素, 钉螺, 毒性

消灭钉螺是防治血吸虫病的一项重要措施, 其中药物灭螺是当前主要的措施(《血吸虫病防治手册》, 1981)。国内常用的杀螺药物五氯酚钠, 世界卫生组织已禁止生产和使用。氯硝柳胺杀螺效果虽好, 但价格昂贵。寻求一种资源丰富, 能就地取材, 并且对环境无污染的天然植物杀螺剂, 已是当务之急。

目前世界上研究的有效植物杀螺剂中, 有效成分均为皂甙类物质(Duncan, 1987)。茶皂素是从茶叶籽粕饼中提取出来的一种天然植物皂素。现已证明。茶皂素在海水里对鱼类等变温动物具有很强的毒性(朱全芬等, 1991), 且资源丰富, 价格低廉。为此于 1993—1994 年在实验室进行了茶皂素杀灭钉螺实验和淡水鱼类毒性试验。

一、材料和方法

1. 材料

(1) 药物 供试药物为: 云南产茶皂素 I (含量 55.8%), 浙江杭州产茶皂素 II (含量 63.3%); 湖南长沙产茶皂素 III (含量 80%); 湖南桃江产茶皂素 IV (含量 79.5%)。以上药物均为黄色粉末, 易溶于水, 均系中国农科院茶叶研究所综合利用研究室统一提取和分析。用药时按有效成分计算用量。

(2) 钉螺 成螺和幼螺从岳阳市君山岛湖洲采集。

(3) 螺卵 实验室繁殖之 4 日龄卵, 在体视显微镜下选择泥皮完整、无裂缝之螺卵

供实验用。

(4) 鱼苗 鲢鱼,体长 3.3—3.8cm;从鱼场购回,置于实验室大缸内饲养。

2. 方法

(1) 浸泡杀螺 将 4 种不同型号的茶皂素用去氯自来水配成不同浓度药液各 1000mL,每种茶皂素分 5 个浓度组,以清水对照。各组投放装有 50 只活成螺的尼龙袋 3 袋,在 20,25,30℃ 恒温下,浸杀 1,2,3d 后,每天取出 1 袋钉螺,用清水冲洗干净、晾干;于第 4 天用敲击法测定钉螺死活,并用 Bliss 法计算药物的 Lc_{50} 及 Lc_{90} 值和显著性检验。

(2) 喷杀成螺 取 30×40×50cm 搪瓷方盘,内垫一块海绵,在上面做成 2cm 厚的泥面,中间留有一直径 5cm 的圆孔,将活螺放在泥面上,每盘 100 只,让其活动。4 种不同产地的茶皂素,每种 3 个剂量组,每个剂量组投钉螺 2 盘,每盘 100 只。将药物分别用水溶解,然后用喷雾器将各组药液分别均匀喷洒于方盘内,喷水量以泥面不积水为原则。定期在方盘内中央孔放少量清水,以保持泥面潮湿、不开裂。喷药后不同时间各组取出 1 盘钉螺测定死亡率。

(3) 浸杀螺卵 4 种不同茶皂素按不同浓度分组。用 100mL 烧杯,每组 3 杯,每杯投螺卵 100 只,加入不同浓度药液 50mL,在室温下分别浸杀 3,5,7d(中途补充蒸发药液至原体积)后,每天取出 1 杯,用清水漂洗 3 次,加清水孵化,观察幼螺孵出率。同时设清水对照。

(4) 浸杀幼螺 从现场采集有 3—4 螺旋的幼螺,用吸管分别吸到 50mL 烧杯内;每杯放幼螺 50 只,用滤纸吸干水分,尼龙纱封住杯口,防止幼螺爬出;再放到 200mL 烧杯内,加不同药液 200mL,其分组与杀成螺分组相同,每组为 2 杯;浸杀 48h,72h 后各组取 1 杯幼螺,在解剖镜下用针刺法测幼螺死亡数。设清水对照。

(5) 鱼毒试验 从现场购回鱼苗,室内饲养 7d,每 2 天换水一次。选择健康鱼苗,按长江水产科学研究所制定的《鱼类毒性试验暂行规定》方案进行试验(袁鸿昌,1992)。

二、 结 果

1. 对成螺的浸杀效果

在 25℃ 恒温下,4 种不同型号茶皂素浸杀钉螺 48h,结果表明:茶皂素 I 2.5mg/L,茶皂素 II 5.0mg/L,茶皂素 III 5.0mg/L 浸杀成螺死亡率均为 100%;茶皂素 IV 8.0mg/L 浸杀成螺死亡率 96%。不同温度下不同产地的茶皂素对钉螺的 Lc_{50} 值见表 1。经显著性检验,茶皂素 I 优于茶皂素 II,茶皂素 II 优于茶皂素 IV,其差异呈显著性($P < 0.01$);茶皂素 II 与 III 的杀螺效果无显著性差异($P > 0.05$)。

表 1 4 种茶皂素在不同温度下对钉螺的 Lc_{50} 值

分组	温度 (℃)	Lc_{50} (mg/L)	$Lc_{50}95\%$ 可信限 (mg/L)	Lc_{90} (mg/L)	$Lc_{90}95\%$ 可信限 (mg/L)
茶皂素 I	20	1.65	1.46—1.87	4.00	3.64—4.98
	25	1.47	0.78—2.24	2.21	1.89—2.59
	30	1.29	1.20—1.39	2.10	1.93—2.30

续表 1

分组	温度 (℃)	Lc ₅₀ (mg/L)	Lc ₅₀ 95%可信限 (mg/L)	Lc ₉₀ (mg/L)	Lc ₉₀ 95%可信限 (mg/L)
茶皂素 I	20	3.50	2.63—4.17	5.85	5.08—6.73
	25	2.85	2.70—3.02	4.17	3.82—4.58
	30	2.61	2.27—3.42	3.62	3.45—3.82
茶皂素 II	20	3.27	3.20—3.35	4.86	4.77—7.26
	25	3.08	2.49—3.27	4.60	4.34—4.87
	30	2.96	2.71—2.99	4.37	4.11—4.71
茶皂素 IV	20	5.87	4.44—7.35	9.18	6.90—10.22
	25	5.86	5.33—6.00	8.37	7.49—9.36
	30	4.11	2.66—5.32	7.80	6.75—9.02

2. 对成螺的喷杀效果

4 种不同型号茶皂素在平均室温 25.3℃(22.5—28℃)时,茶皂素 I 5.0g/m²,茶皂素 II 20g/m²,茶皂素 III 20g/m² 及茶皂素 IV 20g/m²,第 7 天钉螺校正死亡率分别为 84.4%,88.9%,88.9%和 80%;杀螺效果相近,而用量以茶皂素 I 最小,茶皂素 II 和 III 相近,茶皂素 IV 次之(表 2)。

表 2 4 种茶皂素室内喷杀钉螺效果

分 组	剂 量 (g/m ²)	钉螺校正死亡率(%)	
		5d	7d
茶皂素 I	1.25	34	46.7
	2.50	54	61.1
	5.00	66	84.4
茶皂素 II	5.00	48	42.2
	10.00	62	55.6
	20.00	80	88.9
茶皂素 III	5.00	46	66.7
	10.00	60	73.3
	20.00	76	88.9
茶皂素 IV	5.00	44	44.4
	10.00	56	60.0
	20.00	70	80.0
清 水	0	0	10.0

3. 对螺卵的浸杀效果

4 种茶皂素在平均室温 26.3℃时,浸杀螺卵 7d,茶皂素 I,II,III,IV 的浓度分别为 5.0,10.0,10.0,20.0mg/L,杀螺卵效果均达 100%,以茶皂素 I 杀螺卵效果最好,用量最

小;茶皂素Ⅱ和Ⅲ相似,茶皂素Ⅳ次之。

4. 对幼螺的浸杀效果

4种不同类型的茶皂素在平均室温29℃(25—33℃)时,茶皂素Ⅰ1.25mg/L,茶皂素Ⅱ5.0mg/L,茶皂素Ⅲ5.0mg/L,茶皂素Ⅳ5.0mg/L,杀幼螺效果分别为100%,96.2%,100%和69.0%;当后3种茶皂素药物浓度分别提高到10mg/L时,浸杀4.8h,幼螺死亡率均为100%。其中以茶皂素Ⅰ效果最好,茶皂素Ⅱ和Ⅲ相似,茶皂素Ⅳ次之。

5. 鱼毒试验

在平均室温28℃时,茶皂素Ⅰ2.5mg/L,24h使鲢鱼全部死亡,而在1.6mg/L以下,5天内全部存活;茶皂素Ⅱ和Ⅲ5.0mg/L,48h内鲢鱼全部死亡,而4.0mg/L以下,则全部存活;茶皂素Ⅳ10.0mg/L,48h使鲢鱼全部致死,而在5.0mg/L以下全部存活。

三、讨 论

4种不同类型茶皂素对日本血吸虫中间宿主钉螺的杀灭效果试验结果表明,茶皂素对钉螺的杀灭效果是肯定的。无论是成螺、幼螺和螺卵,在茶皂素浓度为2.5—10mg/L范围内,其浸杀效果均可达100%,这与以往有关试验基本一致(张楚霜等,1991)。

但是,本试验发现4种类型茶皂素对钉螺的杀灭效果不同,甚至差异很大,无论是成螺、幼螺或螺卵均是同一趋势。同时还发现4种茶皂素对淡水鱼类的毒性亦不尽相同,值得讨论。

从试验结果看,茶皂素Ⅰ杀灭钉螺效果最好,浸杀浓度2.5mg/L,其效果就能达100%;茶皂素Ⅱ,Ⅲ次之,浸杀浓度5.0mg/L,其效果才能达到100%;茶皂素Ⅳ浸杀浓度8.0mg/L,其效果只能达到96%。根据已有的研究结果分析,这可能与茶皂素原产地的茶树品种有关。这4种茶皂素是从不同产地的茶叶籽中提取出来的,产地不同,品种也不一样;如茶皂素Ⅰ属云南大叶种乔木型茶树,其种子中皂素含量比其它茶树品种高。另外,茶皂素是由7种结构及比例不同的甙元所组成的混合物,所以茶籽皂素的化学结构在品种间也可能存在差异。

研究表明,皂甙类物质溶血作用或毒性的强弱与化学结构有密切关系,尤其是与糖体部分有关。单皂甙溶血作用明显,酰化糖、呋喃甾醇双皂甙和中性三萜双皂甙的作用较弱,甚至无作用。皂甙元与糖体部分呈酸性的单皂甙和双皂甙的活性则呈中等。三萜类皂甙元的A环上极性基团较弱,D和E环上取代基极性较弱,溶血作用强(庄司顺三,1981)。关于这一点,Duncan(1987)对埃塞俄比亚恩多特浆果三萜皂甙的结构分析中亦得到证实,其杀螺效果与提取时糖链在配基的位置有关。而据已有研究结果,茶皂素的糖体部分均在配基A环C-3位上以甙链形式相结合,属单皂甙,尚未发现双皂甙存在(袁鸿昌,1992)。这是个值得今后探讨的问题。

茶皂素对人畜口服无毒(夏春华,1982),对对虾无毒杀作用,在水中48h能自动分解(朱全芬等,1992)。本试验以鲢鱼为材料,在浸杀条件下,茶皂素Ⅰ在1.6mg/L以下,茶皂素Ⅱ,Ⅲ在4.0mg/L,48h后全部存活;茶皂素Ⅳ在5.0mg/L亦无毒杀作用。这便为在鱼类得到保护的情况下达到杀灭钉螺的目的提供了可能。

根据上述结果,兼顾到淡水鱼类资源的保护,茶皂素在水体中用于灭螺的浓度,一般以 3.0—5.0mg/L 为宜,在华南、中南二区域可采用浙江、湖南、江西等地所产茶叶籽粕饼提取的茶皂素,但其使用浓度宜控制在 2—3mg/L。至于使用方法,各地因条件不一,使用习惯不尽相同,但就试验而论,宜采用浸杀,其杀灭效果较好。

参 考 文 献

- 卫生部编,血吸虫病防治手册,1981,上海科学技术出版社,52—56。
长江水产科学研究所,企业环境保护研究组编,1987,鱼类毒性试验暂行规定,环境保护通讯,2,3:43—45。
朱全芬、夏春华、梁亚全等,1991,茶皂素鱼毒活性及其应用研究 I · 茶皂素对对虾及沙蚕的毒性影响,茶叶科学,11(1):67—71。
朱全芬、夏春华、梁亚全等,1992,茶皂素鱼毒活性及其应用的研究 IV · 盐度水温对茶皂素鱼毒活性的影响,茶叶科学,12(1):75—80。
张楚霜、何再德、田明礼,1991,油茶皂素杀钉螺试验报告,湖南预防医学杂志,1:44—46。
姜礼燧、潘炳炎,1982,鱼类对金属及农药的回避反应研究,环境科学,6:2—3。
袁鸿昌,1992,中国血吸虫流行特征与防治策略,国际血吸虫病学术讨论会论文及摘要汇编,卫生部,26—27。
夏春华,1982,茶皂素研究进展,国外农学——茶叶,2:15—20。
莊司順三,1981,サボニンの化学と生物活性,化学の領域,35(6):18—27。
Duncan, J., 1987, The biochemical and physiological basis of the Molluscicides, In: K. E. Moe et al (eds.), Plant Molluscicides. New York, John Wiley & Sons, 116—119。

APPLICATION OF TEA SAPONIN FOR SCHISTOSOMIASIS CONTROL I. USING TEA SAPONIN AS MOLLUSCICIDE AGAINST *ONCOMELANIA*, THE INTERMEDIATE HOST OF SCHISTOSOMIASIS

Zhang Chushuang, Zhou Lihong, Zhu Jinhua

(Hunan Institute of Parasitic Disease, Yueyang 414000)

Xia Chunhua, Zhu Quanfen, Liu Rongxiang

(Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310008)

ABSTRACT

Experiments on *Oncomelania*, the intermediate host of *Schistosoma japonicum*, showed that tea saponin used as the molluscicide is effective on the adult and juvenile snails and the snail eggs. Mortality of 100% was obtained by immersing the mollusca and their eggs in 2.5—5.0mg/L tea saponin solution and of 82%—90% was obtained by spraying the adult snails with tea saponin at density of 5—20 g/m². Compared to Niclosamide, tea saponin is much less toxic to freshwater fish. Tea saponin's easy availability, low price, botanical origin, and non-pollution characteristic favor its broad developing prospects. The toxicity and operational techniques in using tea saponin as molluscicide are detailed.

Key words Tea saponin, *Oncomelania*, toxicity