

氟苯尼考对四角蛤蜊稚贝的急性毒性

迟吉祥¹, 闫喜武¹, 肖露阳¹, 马贵范¹, 郭文学¹, 杨凤¹, 张国范² (1. 大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁省贝类良种繁育工程技术研究中心, 辽宁大连 116023; 2. 中国科学院海洋研究所, 山东青岛 266071)

摘要 [目的] 研究氟苯尼考对四角蛤蜊稚贝的急性毒性作用。[方法] 采用静水水生生物测试方法, 分别在 24、48、72 和 96 h 观察四角蛤蜊稚贝的死亡数, 并计算出氟苯尼考的安全质量浓度。[结果] 氟苯尼考在 24、48、72 和 96 h 的半致死浓度分别为 2 930.65、1 585.86、1 415.32 和 948.64 mg/L, 氟苯尼考对四角蛤蜊稚贝的安全浓度为 139.31 mg/L。[结论] 该研究为四角蛤蜊人工苗种繁育过程中的合理用药提供了理论依据。

关键词 安全浓度; 半致死浓度; 渔药

中图分类号 S481+.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)11-04860-03

Acute Toxicity of Florfenicol to Juvenile *Macra veneriformis*

CHI Ji-xiang et al (College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Engineering and Technology Research Centre of Shellfish Breeding in Liaoning Province, Dalian, Liaoning 116023)

Abstract [Objective] The research aimed to study the acute toxicity of florfenicol to juvenile *Macra veneriformis*. [Method] The dead number of juvenile *M. veneriformis* after 24, 48, 72 and 96 hours were observed by using hydrostatic aquatic organisms testing method. And the safe quality concentration of florfenicol was calculated. [Result] The half lethal concentration of florfenicol after 24, 48, 72 and 96 hours were 2 930.65, 1 585.86, 1 415.32 and 948.64 mg/L respectively. The safe concentration of florfenicol to juvenile *M. veneriformis* was 139.31 mg/L. [Conclusion] The research provided theoretical basis for rational drug application in artificial fingerling breeding of *M. veneriformis*.

Key words Safe concentration; Half lethal concentration; Fisheries drug

四角蛤蜊(*Macra veneriformis* Reeve) 隶属软体动物门、瓣鳃纲、真瓣鳃目、蛤蜊科, 主要栖息于潮间带中下区及浅海的泥沙滩中, 资源面积广阔, 资源量大, 仅辽宁资源面积就达 1.06 hm², 占辽宁潮间带贝类分布资源总面积的 28.3%, 居滩涂贝类之首^[1-4]。四角蛤蜊肉质鲜美, 营养价值较高, 是大众喜食的经济贝类之一, 具有良好的开发利用前景。

在四角蛤蜊的苗种繁育过程中, 病害频发、存活率低是限制其产业发展的重要因素。已有的研究发现, 四角蛤蜊在人工养殖条件下幼虫、稚贝的存活率极不稳定, 变态期幼虫的存活率从 41.67% 到近 100% 不等^[2,5], 稚贝期也有大量死亡的报道^[2]。因此, 寻找适合、有效的抗菌药物显得尤为重要。关于福尔马林、高锰酸钾、甲醛、敌百虫等^[6-9] 常见渔药在水产经济动物的应用已有报道, 但尚未见到有关四角蛤蜊稚贝阶段的药物毒性报道。

氟苯尼考(Florfenicol), 又称氟甲砜霉素, 为甲砜霉素的单氟衍生物(化学结构式见图 1), 是最近几年应用相当广泛的一种广谱氯霉素类抗菌药物。由于氯霉素化学结构中芳香环上的对位硝基可导致再生障碍性贫血和免疫抑制等不良反应, 因此在食品动物生产中被禁止使用, 而氟苯尼考则是以 CH₃SO₂ 取代了 NO₂ 基团, 使化学结构发生了改变, 避免了再生障碍性贫血的不良反^[10]。氟苯尼考的特点是抗菌谱广, 可有效抑制沙门氏菌、大肠杆菌、变形杆菌、嗜血杆菌、胸膜肺炎放线杆菌、猪肺炎支原体、猪链球菌、猪巴氏杆菌、支气管败血博氏杆菌、金黄色葡萄球菌等菌种, 已成为防治畜禽、鱼类细菌性疾病的的首选药物。该药在水产经济动物

中的应用已见于杂色鲍^[11]、马氏珠母贝^[12]、鲟鱼^[13]、鲫鱼^[14]等, 目前尚未见其对四角蛤蜊的急性毒性的研究报道。基于此, 笔者通过设置不同氟苯尼考浓度梯度, 研究了氟苯尼考对四角蛤蜊稚贝的急性毒性, 以期保障四角蛤蜊养殖期间的用药安全, 并为氟苯尼考的合理使用提供科学依据。

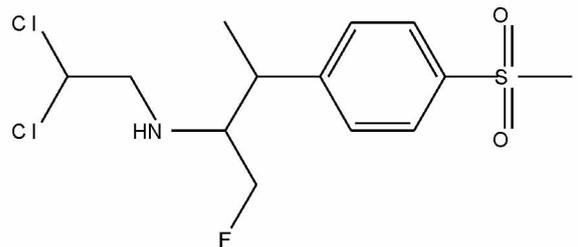


图 1 氟苯尼考的化学结构式

1 材料与方法

1.1 材料 试验在庄河市海洋贝类苗种场进行, 所用氟苯尼考粉末购自广东佛山市南海宏泰动物药业有限公司, 试验所用四角蛤蜊稚贝为 2012 年 6 月人工繁殖并培育至 1 月龄的稚贝, 大小在 220~270 μm, 平均 234.67 μm。试验前未投喂任何药物, 试验期间水温 28.4~30.4 °C, 充分供氧。

1.2 方法 通过预试验确定 96 h 全致死浓度后, 按照等对数间距设置浓度梯度, 设置 1 个对照组和 7 个试验组, 每组放入 100 粒四角蛤蜊稚贝(表 1), 采取半净水方式饲养。水温为 28.4~30.4 °C, 24 h 连续充氧。

在试验过程中, 实时挑出死亡稚贝(死亡标准为贝壳张开, 刺激软体部无反应), 每 24 h 全量换水 1 次, 并记录死亡数量、生物反应及活动状态, 96 h 后终止培养。在培养过程中, 对照组死亡率不应超过 10%, 非正常状态率也不得超过 10%, 否则试验失败, 需要重新操作。

1.3 数据处理 根据改进的寇氏法^[15] 计算半致死浓度

$(LD_{50})^{[16]}$ 。半致死浓度 (LD_{50}) 及安全浓度 $(SD)^{[17-18]}$ 的计算公式为:

$$\log LD_{50} = X_k - i(\Sigma p - 0.5)$$

$$SD = 48 \text{ h } LD_{50} \times 0.3 / (24 \text{ h } LD_{50} / 48 \text{ h } LD_{50})^2$$

式中, X_k 为最高浓度组对数值, i 为组距 (相邻两组浓度对数值之差), Σp 为死亡率总和。

表 1 试验设计

组别	氟苯尼考浓度//mg/L	氟苯尼考浓度的对数值	稚贝数
对照组	0	0	100
1	100	2.0	100
2	200	2.3	100
3	400	2.6	100
4	800	2.9	100
5	1 600	3.2	100
6	3 200	3.5	100
7	6 400	3.8	100

2 结果与分析

2.1 四角蛤蜊稚贝给药后的临床症状 在试验过程中, 四角蛤蜊稚贝出现运动频率降低, 行动迟缓, 分泌粘液, 食欲不振的临床症状, 严重的会出现开口不闭合, 直至死亡。

2.2 中毒和死亡情况 不同浓度氟苯尼考对四角蛤蜊的急性毒性见表 2。在此基础上, 建立不同时间四角蛤蜊稚贝的死亡率与氟苯尼考浓度对数的线性回归方程分别为:

$$24 \text{ h 累计死亡率: } y = 0.229 2x - 0.322 7 (R = 0.598 6);$$

$$48 \text{ h 累计死亡率: } y = 0.143 3x - 0.366 9 (R = 0.786 4);$$

$$72 \text{ h 累计死亡率: } y = 0.175 3x - 0.387 9 (R = 0.888 6);$$

$$96 \text{ h 累计死亡率: } y = 0.174 9x - 0.355 5 (R = 0.899 1)。$$

表 2 不同浓度氟苯尼考对四角蛤蜊的急性毒性 %

氟苯尼考浓度 mg/L	氟苯尼考浓度的对数值	时间//h			
		24	48	72	96
0	0	0	0	0	0
100	2.0	0	2.353	2.353	5.882
200	2.3	0	3.158	3.297	6.593
400	2.6	0	3.252	4.878	7.317
800	2.9	1.562	6.316	15.789	25.263
1 600	3.2	6.521	7.234	94.444	100
3 200	3.5	98.958	100	100	100
6 400	3.8	100	100	100	100

表 3 渔药毒性的分级标准

鱼起始半致死浓度//mg/L	毒性分级
<1	剧毒
1~100	高度
100~1 000	中毒
1 000~10 000	低度
>10 000	微毒/无毒

经回归分析预测, 四角蛤蜊稚贝的死亡率与氟苯尼考浓度对数表现出较好的正相关性。通过改进的寇氏法计算出

氟苯尼考对四角蛤蜊稚贝急性毒性: 24h LD_{50} 为 2 930.65 mg/L, 48h LD_{50} 为 1 585.86 mg/L, 72h LD_{50} 为 1 415.32 mg/L, 96h LD_{50} 为 948.64 mg/L, 安全浓度为 139.31 mg/L。根据渔药分级标准^[19] (表 3), 以 96h LD_{50} 为评价指标, 可知氟苯尼考对四角蛤蜊稚贝的毒性属中毒水平。

3 讨论

该试验结果表明, 四角蛤蜊稚贝中毒程度随着给药时间和给药浓度的增加而加重, 死亡率也随之增加。这说明四角蛤蜊稚贝对氟苯尼考的急性毒性具有较强的时间依赖性和浓度依赖性。这与南美白对虾相似。Williams 等^[20] 对南美白对虾的研究发现氟苯尼考对南美白对虾具有较高毒性, 而且毒性随着浓度的增大而增强。96 h 药浴结束后, 将四角蛤蜊稚贝恢复氧气饵料充足的清洁海水中暂养, 仍陆续出现死亡个体, 可能原因是中毒引起器官的不可逆性损伤, 进而导致稚贝死亡。氟苯尼考的代谢与转化通常在肝脏与肾脏中进行, 少量随粪便排出体外^[21], 而贝类的消化腺功能与肾脏相仿, 当氟苯尼考过量时, 超过其解毒代偿的能力, 就会造成器官实质性的损伤^[11]。

氟苯尼考作为新生代的光谱抗菌药物, 已广泛应用于水产、畜牧等领域, 但是氟苯尼考对不同水产经济动物的毒性大小种间差异较大。刘晓强等^[14] 对鲫鱼苗的研究表明氟苯尼考对鲫鱼苗的 24 h、48 h 和 96 h 的 LD_{50} 分别为 1 314.14、1 154.23 和 1 129.54 mg/L。潘红艳等^[13] 对鲟鱼研究表明氟苯尼考对鲟鱼的 96 h LD_{50} 为 891.25 mg/kg 鱼体重, 其安全浓度为 193.69 mg/kg 鱼体重, 并指出氟苯尼考对鲟鱼为低毒水平。Williams 等^[20] 对氟苯尼考安全性试验中发现其对南美白对虾无节幼虫 24 h LD_{50} 为 64.0 mg/L, 对蚤状幼虫跟后期幼体 48 h LD_{50} 为 64.0~100.0 mg/L。吴万红^[22] 对虹鳟鱼在进行细菌性肠炎治疗时采用 4~8 mg/L 的氟苯尼考药浴病鱼即可获得良好的疗效, 证明氟苯尼考可以安全使用。该试验对于四角蛤蜊稚贝氟苯尼考 24 h、48 h、72 h 和 96 h 的 LD_{50} 分别为 2 930.65、1 585.86、1 415.32 和 948.64 mg/L, 安全浓度为 139.31 mg/L。因此, 在实际生产中, 氟苯尼考不可过量使用, 应少投勤投, 并适当增长休药期。

目前, 氟苯尼考作为第 3 代氯霉素类药物, 其广谱抗菌, 抑菌作用强, 不易产生耐药性, 吸收好, 吸收快, 安全, 无毒副作用, 对环境无任何伤害, 已经取代了氯霉素, 已被亚欧美 20 多个国家批准用于鱼类、猪、牛等动物细菌性疾病的治病防疫^[21]。四角蛤蜊作为中国重要的经济贝类品种, 进行氟苯尼考对四角蛤蜊的毒性作用研究具有重要意义。

参考文献

- [1] 闫喜武, 王琰, 郭文学, 等. 四角蛤蜊形态性状对重量性状的影响效果分析[J]. 水产学报, 2011, 35(10): 1513-1517.
- [2] 赵越, 王金海, 张从尧, 等. 培育密度及饵料种类对四角蛤蜊幼虫生长、存活及变态的影响[J]. 水产科学, 2011, 30(3): 160-163.
- [3] 董景岳, 李金明, 何贵如. 渤海湾南部四角蛤蜊渔业生物学及开发利用研究[J]. 齐鲁渔业, 1991, 32(1): 41-44.
- [4] 闫喜武, 张跃环, 左江鹏, 等. 北方沿海四角蛤蜊人工育苗技术的初步研究[J]. 大连水产学院学报, 2008, 23(5): 348-352.
- [5] 郭文学, 闫喜武, 马贵范, 等. 两种四角蛤蜊 (*Macra veneriformis*) 壳内色素系选育初探[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(2): 1-6.

- [6] 牟洪民,唐黎,王吉桥,等. 4种常用渔药对鲢鱼种的急性毒性试验[J]. 淡水渔业,2010,40(5):76-79.
- [7] 杨启超,万全,赵俊峰,等. 4种常用渔药对泥鳅的急性毒性试验[J]. 水利渔业,2006,26(2):93-95.
- [8] 潘立新,施振宁,张永正,等. 4种常用药物对七彩神仙鱼的急性毒性试验[J]. 浙江海洋学院学报:自然科学版,2006,25(3):272-274.
- [9] 乔德亮,凌去非,殷建国,等. 4种常用水产药物对丁鱼岁鱼种的急性毒性试验[J]. 水利渔业,2005,25(4):92-93.
- [10] 朱黎明. 氟苯尼考——水产养殖业中氯霉素最新替代品[J]. 河北渔业,2004(3):28.
- [11] 徐力文,廖昌荣,刘广峰,等. 氟苯尼考对杂色鲍的急性毒性及组织毒理学[J]. 大连水产学院学报,2005,20(4):295-299.
- [12] 刘志刚,王本兴,沈汝寿. 几种抗菌药物对马氏珠母贝壳顶幼虫的毒性试验[J]. 湛江水产学院学报,1995,15(1):13-20.
- [13] 潘红艳,杨虎,郭娇娇,等. 氟苯尼考对鲟鱼的急性毒性[J]. 湖北农业科学,2011,50(4):812-814.
- [14] 刘晓强,刘海侠,梁拓,等. 四种抗菌药物对鲫鱼苗的急性毒性试验[J]. 动物医学进展,2010,31(1):49-53.
- [15] 楼宜嘉. 药物毒理学[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:154-156.
- [16] 刘宁,沈明浩. 食品毒理学[M]. 北京:中国轻工业出版社,2005:96-97.
- [17] 王高学,刘海侠. 水产动物疾病研究技术与试验方法[M]. 杨凌:西北农林科技大学出版社,2002:21-28.
- [18] 叶素兰,余治平. 六种水产药物对草鱼鱼种的急性毒性试验[J]. 水产科学,2007,26(10):564-566.
- [19] 杨先乐,陆承平,战文斌. 新编渔药手册[M]. 北京:中国农业出版社,2005:159,236,419,492.
- [20] WILLIMAS R R, BELL T A, LIGHTNER D V. Shrimp antimicrobial testing: II. Toxicity testing and safety determination for twelve antimicrobials with penaeid shrimp larvae[J]. J Aquat Anim Health, 1992, 4(4):262-270.
- [21] 郭少忠,吴晓君. 浅谈渔药氟苯尼考[J]. 海洋与渔业,2008(5):23-24.
- [22] 吴万红. 氟苯尼考在虹鳟鱼细菌性疾病预防中的应用[J]. 农业科技与信息,2008(17):54.
- [23] LI X W, ZHANG H J, WU C S, et al. Studies on Pharmacodynamics *in vitro* of Florfenicol Dual Suspension Emulsion [J]. Agricultural Science & Technology, 2012, 13(7):1509-1515.
- [24] 周剑,杜军,刘光迅,等. 4种常用药物对长薄鳅幼鱼的急性毒性试验研究[J]. 西南农业学报,2012(5):1920-1924.
- [25] 林茂,纪荣兴,陈政强,等. 氟苯尼考在日本鳗鲡和欧洲鳗鲡体内的药代动力学[J]. 安徽农业科学,2011,39(36):22341-22343,22517.

(上接第4835页)

初产若蚜体重为0.03 mg/头,成蚜体重为0.62 mg/头。在小白菜上饲喂的成蚜体重极显著大于在油菜上饲喂的同龄期桃蚜。在小白菜上饲喂的桃蚜相对日均体重增长量极显著大于在油菜上饲喂的桃蚜,说明经过继代饲养后,相对油菜而言,桃蚜对小白菜已经产生了一定的适应性。

3 结论与讨论

通过观察统计桃蚜的发育历期、存活率、繁殖能力及相对日均体重增长量等指标,探讨了不同寄主蔬菜对桃蚜生长发育等生物学特性的影响。结果表明,桃蚜在寄主小白菜上生长发育明显具有优势,表现在1~4龄若蚜发育历期长于油菜上的若蚜,个体日均体重增长率显著大于油菜上的桃蚜。上述结果最终导致:①取食小白菜的桃蚜在1~4龄若蚜发育历期较长,延迟了若蚜的生长发育,羽化至产仔经历的成蚜期较短,加重了对小白菜的危害。取食油菜的桃蚜则正好相反,在1~4龄若蚜发育历期较短,羽化至产仔经历的时间较长,相对小白菜而言,它对油菜的危害较轻。②在不同寄主蔬菜上桃蚜各龄期的存活率之间差异不显著,桃蚜对小白菜的危害比对油菜严重,这不仅表现在蚜虫的产若蚜量、日均体重增长量甚至为害能力上,同时蔬菜品种不同,抗虫性也有所差异^[14]。

蚜虫是蔬菜种植业较难防治的害虫之一,同时也是蔬菜重要病毒病的传播病原^[15],绿色有机蔬菜生产上仍以培育抗虫品种作为主要的防治蚜虫方法。关于蚜虫在保护地蔬菜上的发生规律等研究较多^[16-17],但对不同寄主蔬菜田间蚜虫生物学特性的比较研究的报道较少,该研究在室内明确了寄主蔬菜油菜和小白菜对蚜虫生物学特性的影响,为进一

步探讨田间不同蔬菜品种间抗蚜虫性大小奠定了基础。

参考文献

- [1] WEBER G. Genetic variability in host plant adaptation of the green peach aphid, *Myzus persicae* [J]. Entomol Exp Appl, 1985, 38:49-56.
- [2] BLACKMAN R L. Separation of *Myzus (Nectarosiphon) antirrhinii* (Machiat) from *Myzus (N.) persicae* (Sulzer) and related species in Europe [J]. Systematic Entomology, 1989, 11:267-276.
- [3] 谢贤元. 十字花科植物上桃蚜的两个生物型[J]. 植物保护, 1992, 18(1):31-32.
- [4] 刘绍友,胡作栋,史淑中,等. 油菜病虫害及其防治[M]. 西安:陕西科技出版社,1991.
- [5] 王念慈. 烟蚜在田间的自然消长与生物学研究[J]. 中国烟草, 1981(1):4-8.
- [6] 侯有明,刘绍友,周靖华,等. 不同寄主植物上桃蚜种群动态的研究[J]. 干旱地区农业研究, 1999, 17(4):45-49.
- [7] 周琼,梁广文,曾玲. 几种植物提取物和药剂对桃蚜和萝卜蚜生长发育的影响[J]. 中国蔬菜, 2005(2):15-18.
- [8] 张建亮,赵景玮,吴国星. 桃蚜研究新进展[J]. 武夷科学, 2000, 12(6):167-176.
- [9] 赵慧艳,汪世泽,袁峰,等. 不同温度下转换寄主对桃蚜生态法特征的影响[J]. 植物保护学报, 1997, 24(1):19-23.
- [10] 陈文胜,崔志新,李炳夫. 温度对桃蚜种群发生的影响[J]. 湖北农业科学, 2002(2):68-69.
- [11] 仵均祥,刘绍友,周靖华,等. 寄主植物对桃蚜不同寄主生物型的影响[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(6):59-63.
- [12] ADAMS J B, VAN EMDEN H F. The biological properties of aphids and their host plant relationships[M]. London: Aphid Technology, 1972:47-49.
- [13] 徐汝梅,成新跃. 昆虫种群生态学[M]. 北京:科学出版社, 2005:21-51.
- [14] 明珂,古德就,韦国栋. 菜蚜茧蜂对取食不同蔬菜桃蚜的选择性[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(35):20081-20082.
- [15] 周益军. 蔬菜重要病毒病的病原、流行和分子生物学研究进展[J]. 江苏农业学报, 2000, 16(1):26.
- [16] 卜庆国,庞保平,张若芳,等. 呼和浩特地区马铃薯田蚜虫的种群动态[J]. 生态学杂志, 2013, 32(1):135-141.
- [17] 黄拔山. 油菜蚜虫发生消长及迁飞规律研究[J]. 病虫测报, 1987(2):26-29.