

复合不育剂对高原鼠兔种群控制作用的研究^{*}

魏万红¹ 樊乃昌² 周文扬¹ 杨生妹¹ 景增春¹ 曹伊凡¹

(¹中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

(²浙江师范大学生物系, 金华 321004)

摘要: 通过室内试验选定致高原鼠兔雌性和雄性不育或抗生育作用且对环境低污染或无污染的不育剂各一种。雌性不育剂的半致死剂量 LD₅₀ 为 8.68mg/kg, 半不育剂量 ED₅₀ 为 2.11mg/kg。雄性不育剂的半致死剂量 LD₅₀ 为 121.42mg/kg, 半不育剂量 ED₅₀ 为 43.70mg/kg。前者的主要作用特点是导致子宫内膜出血, 体重下降, 从而引起胚胎流产或吸收, 而后的作用部分是睾丸, 对曲细精小管内精子、精子细胞、精母细胞以及管壁都有不同程度的损坏。高原鼠兔对两种不育剂配置的复合不育剂毒饵的摄食系数为 0.33。采用复合不育剂毒饵在野外建立不育种群, 结果表明, 实验区不育种群密度由原来的 56 只/hm² 降至 8 只/hm², 而对照区种群密度则由原来的 54 只/hm² 增至 138 只/hm²。实验区不育种群因胚胎流产和吸收, 产仔率明显低于对照区。

关键词: 高原鼠兔; 复合不育剂; 抗生育; 流产

1 引言

不育剂控制动物种群的研究已有多年历史, 其生态学基础和控制理论日益成熟(张知彬, 1995; Kirkpatrick 等, 1985; Kendel 等, 1973)。在特定生境条件下使用不育剂防治鼠害的实例, 有些取得成功, 但更多的由于各种因素的作用仍未取得理想的效果。国外于 50 年代末开始化学不育剂控制野生动物数量的研究(Howard 等, 1969; Marsh 等, 1969)。90 年代, 不育疫苗的研制成为有害动物防治的一个热点(Turner 等, 1992)。国外的研究对象主要包括鸟类, 啮齿动物, 猫科, 犬科, 鹿科和马科等动物, 所做的工作包括不育剂的筛选、使用后动物体重和繁殖器官以及生殖力变化的测定、种群数量恢复速度的观察等, 并在大型动物的数量控制中取得了较好的效果。在啮齿类动物中由于物种的多样性、特异性以及不育剂的适口性等问题, 该领域的研究还不够深入, 应用技术尚未成熟。其中筛选对雌雄动物都起作用的是解决不育剂控制的关键。目前对哺乳动物繁殖的各阶段起作用的化合物已有很多资料, 虽然并非全部用于防治鼠害, 但为筛选鼠类不育剂提供了许多有价值的信息, 同时人用避孕药的广泛研究对有害动物不育剂的筛选亦有重要的参考作用。

国内有关应用不育技术防治啮齿动物的研究尚属开始阶段。林统先等(1988)利用人用避孕药的研究结果, 采用醋酸棉酚对褐家鼠的抗生育作用进行研究。赵日良等(1994)利用植物不育剂对森林害鼠棕背的种群进行控制, 取得了一定成效。张知彬等(1997)对氯乙醇的抗生育作用进行了研究。本文在以前工作的基础上, 参考已有的资料和文献, 通过室内试验分

^{*} 国家自然科学基金(No. 39570484), 农牧业鼠虫害综合治理国家重点开放实验室和国家“九五”科技攻关(96-016-01-01)资助项目

别选定致高原鼠兔(*Ochotona curzoniae*)雄性和雌性个体不育或抗生育、且无污染或低污染的不育剂,确定该不育剂的有效使用剂量和作用形式。同时在野外施放不育剂毒饵,建立高原鼠兔的不育控制种群,确定复合不育剂在控制高原鼠兔种群中的作用。

2 材料与方法

2.1 药剂选择

选定的雄性不育剂为已淘汰的人类避孕药物,是直接作用于睾丸生殖细胞的抗精药物,雌性不育剂是有明显致流产作用的抗凝血类化合物。两种制剂安全、可靠,对环境无污染或低污染。

2.2 半不育剂量

将每种不育剂按倍率为1:2的等比级数分别设6个剂量组,即12、24、48、96、192、384mg/kg和对照组。

2.3 由于高原鼠兔对环境条件的变化极其敏感,环境变化将引起繁殖状态的变化,野外捕捉的高原鼠兔在室内饲养条件下很难繁殖成功。同时野外的怀孕鼠因运输等问题导致严重早产,流产,胚胎吸收。为了真实反映不育剂量与繁殖力的关系,剂量实验主要在野外进行,同时在室内做部分补充实验。实验采用标志重捕法,每剂量组标志10只,共标志雌鼠和雄鼠各60只。

2.4 首先抽样检查雌性高原鼠兔的怀孕率和雄性的发情状态,当种群进入最佳繁殖期即开始标志动物。此时,雄性鼠兔已全部发情,雌性鼠兔根据乳头和外阴部状态确定是否正在怀孕。对选定的试验鼠称量体重,记录性别,采用一次性灌胃法使其服用一个剂量的不育剂。用耳标标志后在原地释放。对照组动物灌生理盐水。

2.5 根据不育剂的特点在第9~12天重捕标志动物,称量体重,根据胚胎数,子宫斑数以及子宫状态确定不同剂量对雌鼠繁殖力的影响,采用回归法计算半致死剂量、半不育或半抗生育剂量。确定雄鼠睾丸的位置,在附睾中用取样器取1ul的精液放入5ml的生理盐水稀释后,利用计数板确定单位体积内活精子数和死精子数,并做涂片测定精子致畸数。

3 结果与分析

3.1 剂量与体重的关系

3.1.1 在实验期间,除对照组雌性鼠兔的体重略有增加外,其它各组均呈减小趋势。随着剂量的增加,体重明显减少,低剂量组0.54mg/kg的体重减少16.9g,高剂量组8.68mg/kg的体重减少28.9g,最高剂量组中的体重减少的差异达到了显著水平($p < 0.05$)。

3.1.2 在雄性动物中,最低剂量组和对照组的体重减小幅度较小,分别为4.7g和3.7g,而剂量组24mg/kg和96mg/kg的体重则明显减少,分别减少24.9g和24.2g(表1)。

3.2 半不育剂量

3.2.1 研究结果表明,各剂量组的雌性鼠均有不同程度的胚胎流产,吸收和子宫淤血或出血等现象。在计算半不育剂量时若有此类现象发生则视为不育鼠。各剂量组的不育率以该组不育鼠除以实验鼠的数量表示(表2)。以剂量组为自变量 x ,不育率为因变量 y 进行线性回归,其方程为:

$$y = 31.0125 + 9.00467x \quad \text{回归系数 } r = 0.9199,$$

有显著的相关性($F = 16.511, df = 1, p = 0.027$)。根据此方程所求出的雌性不育剂对雌性动物的半不育剂量为 2.11mg/kg 。

表 1 高原鼠兔体重变化

Table 1 The body weight changed of plateau pika by use of LD_{50} with different doses

剂量 Dose (mg/kg)	性别 Sex	实验前体重(克) Body weight before experiment(g)	实验后体重(克) Body weight after experiment(g)	t-检验 t-test
对照 CK	♂	141.7	138.0	$t = 0.768 < t_{0.05}$
12	♂	160.0	155.3	$t = 0.829 < t_{0.05}$
24	♂	193.9	149.0	$t = 3.459 > t_{0.05}$
48	♂	161.6	148.0	$t = 1.968 < t_{0.05}$
96	♂	159.2	135.0	$t = 2.934 > t_{0.05}$
192	♂	158.0	147.8	$t = 1.649 < t_{0.05}$
对照 CK	♀	158.3	162.0	$t = 0.170 < t_{0.05}$
0.5425	♀	163.3	146.4	$t = 1.400 < t_{0.05}$
1.085	♀	135.1	116.8	$t = 1.084 < t_{0.05}$
2.17	♀	162.0	143.4	$t = 1.163 < t_{0.05}$
4.34	♀	161.2	140.1	$t = 1.453 < t_{0.05}$
8.68	♀	143.8	114.9	$t = 2.221 > t_{0.05}$

3.2.2 雄性鼠的精子活性受各种因素的影响,通过精子数和精子活动能力确定不育剂量非常困难,本实验以有无活动精子做为衡量是否生育的标准。各剂量组的不育率以该组无活动精子鼠除以实验鼠的数量表示(表 2)。以剂量组为自变量 x ,无活动精子鼠所占的比例为 y 进行线性回归,其方程为

$$y = 42.7917 + 0.164975x, \text{ 回归系数 } r = 0.7829$$

($F = 4.752, df = 1, p = 0.1174$)。雄性不育剂的半不育剂量为 43.69mg/kg 。由于本项统计中以有无活动精子做为不育的依据,而实际上许多鼠虽然有活动精子存在,但因其数量和活动能力差异等因素,在自然界仍有不育的可能,因此雄性半不育剂量相对较大,而真正引起不育的半不育剂量会更低。

3.2.3 室内补充实验结果表明,随着不育剂数量的增加鼠兔的死亡率则随之增高。雄性鼠随着剂量的增加,死亡时间加快,死亡数量增加。在剂量组 12mg/kg 中,几乎全部成活。在 24mg/kg 组中,第 5 天出现死亡,在实验结束时成活率为 57.1% 。在 96mg/kg 组,虽然第 5 天才出现死亡,在实验结束时的成活率降为 42.9% 。而在 192mg/kg 组,第 2 天即出现死亡,结束时的成活率为 40.0% 。

3.2.4 以剂量组与存活率作线性回归,结果雄性不育剂的半致死剂量为 121.42mg/kg 。研究资料表明,此类雄性不育剂完全不育的剂量接近于致死剂量。本室试验结果表明,当雄鼠服用 384mg/kg 剂量时,第 4 天全部死亡,精子检查表明,虽有精子,但短头精子较多,有明显的致畸作用,因此 384mg/kg 是高原鼠兔的致死剂量。不育剂对雌鼠的半致死剂量为 8.68mg/kg 。

3.3 不育剂的抗生育作用

雌鼠服用不育剂后,最佳作用时间在第 10 天左右,主要表现为体重下降,皮下出血,胃、

肠道充气,腹腔积血,子宫内膜出血,从而使胚胎吸收或流产甚至死亡。雄性不育剂主要作用于睾丸,作用时间为1个月,最佳药效期在第7~20天之间。通过观察,不同剂量条件下睾丸组织切片结果,剂量越大,对睾丸的损伤与破坏作用越严重。对照组睾丸的曲细精小管的生精上皮细胞层次整齐清楚,外管饱满,腔内充满精子和各级精母细胞,而随着剂量的增加,曲细精小管内类精细胞和精子数减少(表3),短头或无尾精子相应增加,同时活精子数也明显减少,使腹腔趋于空虚。在最高剂量组,腔内基本无精子存在,同时曲细精小管自身也明显变形和萎缩,睾丸间质面积相对增加。

表2 不育剂量与不育率的关系

Table 2 The relationship between different doses and rate of infertility

雌性动物 Female		雄性动物 Male	
剂量 Dose (mg/kg)	不育率(%) Rate of infertility	剂量 Dose (mg/kg)	不育率(%) Rate of infertility
0.5425	25.0	24	16.7
1.085	33.3	48	70.0
2.17	62.5	96	70.0
4.34	85.7	192	80.0
8.68	100.0	384	100.0

表3 雄性不育剂量与精子数的关系(1/160000毫升)

Table 3 The relationship between different doses for male infertility and number of sperm(1/160000ml)

剂量 Dose (mg/kg)	动物数 No. of animals	精子数 No. of sperm	活精子数 No. of active sperm	活精子比例(%) Proportion of active sperm
12	10	12.10	3.19	26.36
24	13	14.69	5.58	37.99
48	15	8.32	0.58	7.03
96	13	12.87	1.92	14.89
192	16	12.50	1.21	9.71
384	10	8.90	0.00	0.00
对照组 Control	4	15.50	12.00	77.42

3.4 接受性试验

采用单饲有选择摄食法对高原鼠兔进行毒饵接受性试验。利用全小麦配置分别含0.1%雌性不育剂和0.1%雄性不育剂的试验诱饵。实验时在饲养笼中同时供给未经任何处理的小麦作为标准饵。标准饵及毒饵分置于饲养笼两端的对称位置,每隔12小时对换饵盒位置一次,分别记录48小时内每只鼠对两种饵料的消耗量,并以此计算摄食系数。实验选用7只成年健康高原鼠兔,平均体重128.4g。结果表明,每只鼠兔对试验饵的平均摄食量为6g,标准饵为18.4g,其间存在显著差异($t=5.817, df=12, p=0.00008$),摄食系数为0.33。由此看出高原鼠兔对复合不育剂毒饵的适口性尚可(汪诚信等,1983)。

3.5 现场灭鼠试验

3.5.1 1998年5月下旬在青海湖刚察县境内的布哈河畔选择面积400公顷以上的孤岛做

为实验样地。样地内高原鼠兔密度为中上水平,正处于繁殖期,雌鼠绝大部分怀孕,但尚未发现活动幼体。采用上述适口性实验配制毒饵法制备复合不育剂。实验样地选择三面临河一面开放的区域投放不育剂,每洞口投放15粒左右的小麦不育剂饵料,投放面积约38.25公顷(450m×850m)。效果检查采用目视统计法(汪诚信等,1983)。

3.5.2 实验前在高原鼠兔的活动高峰期(早9:00—10:00),采用目视法统计1/4hm²内高原鼠兔的种群密度,共取4个样方。投饵后每天观察其行为变化,同时选取植被条件相同、鼠密度相同的区域作为对对照样地。采用相同的方法统计种群密度。投放不育剂后,第七天开始出现死亡,在样区只拣到1只死鼠,大多数鼠兔表现行为异常,毛发不整,运动缓慢,但数量基本无变化。在解剖的14只雄性动物中,睾丸位于腹腔的比例为21.4%,而睾丸位于阴囊但处于萎缩状态的比例为57.1%。结果表明,雄鼠的繁殖力已开始受到影响。在解剖的9只雌鼠中,有5只子宫出现血块或有胚胎吸收现象。由此看出,无论雌雄鼠均在第七天开始表现出药物效应。

3.5.3 在投放不育剂一个月后再次检查时,实验区高原鼠兔的数量急剧下降(表4)。试验前,实验区和对照区内高原鼠兔种群密度分别为56只/hm²和54只/hm²。实施不育剂后密度降低为8只/hm²,其中成体3只/hm²,幼体5只/hm²,成幼比平均为0.6:1,灭杀率为85.7%,若将幼体除外,对成体的灭杀率为94.6%。相反对照区种群密度则增至138只/hm²,其中成体密度相对减少为43只/hm²,而幼体的数量增加较多,为95只/hm²,成幼比平均为0.45:1。在调查中,实验区幼体很难发现,偶尔1~2只在洞口活动,而对照区通常有4~6只幼体一起在洞口活动。这种现象说明,施放不育剂后,一方面对高原鼠兔有很好的毒杀作用,灭鼠率相当于一般慢性杀鼠剂且持续死亡时间更长,另一方面残留的个体因部分胚胎流产和吸收,繁殖力降低,间接的起到控制鼠类数量的作用。

表4 高原鼠兔种群密度(只/0.25公顷)

Table 3 The population density of plateau pika (Individual/0.25 hm²)

	样方号 Plots	实验区密度 The density of experimental area		对照区密度 The density of control area	
		成体 Adult	幼体 Young	成体 Adult	幼体 Young
实验前 Before experiment	1	12	0	14	0
	2	8	0	9	0
	3	20	0	13	0
	4	16	0	18	0
实验后 After experiment	1	2	3	7	12
	2	0	1	17	42
	3	1	1	10	22
	4	0	0	9	19

4 讨论

4.1 在草原生态系统中鼠类作为食物链中重要的一环,有其重要的生态学意义。骤然改变这一环节,将会导致物质流、能流和信息流的紊乱。治理鼠害既要注重经济效益,也必须兼顾生态效益。不育技术控制鼠类在交配前或交配后受精前直接和间接地破坏配子的发育和成

熟、阻止精卵结合或受精卵的着床发育而降低鼠类的生育率,从而控制害鼠种群数量的增长。从理论上讲,不育控制和直接灭杀有相同的效果(张知彬,1995)。实际上,不育剂控制后,不育个体的竞争性繁殖干扰作用使种群内参与有效繁殖的个体数减少,进一步降低了种群的出生率,延缓了种群数量恢复的速度(Kendel 等,1973)。此外,不育控制后,有可能抑制边缘种群的增长。不育控制技术既有直接和间接降低害鼠种群数量的作用,又不会导致生态系统的剧烈波动,从理论上讲这一技术将会有良好的前景。

4.2 本文所选定的雌雄不育剂在高剂量时有杀鼠剂的作用,而半不育剂量约为半致死剂量的 1/4 倍,在剂量较低的情况下,复合不育剂对高原鼠兔的控制作用仍优于单一的杀鼠剂。一方面在短期内极大的降低了种群数量,另一方面产仔率明显降低,改变了残鼠的种群结构,幼龄鼠的比例减少,抑制残鼠种群数量的恢复。因此所选定的复合不育剂既降低了控制鼠类的成本,又减少了对环境的污染。实际上所选定的雌性不育剂和雄性不育剂对雌雄鼠均有作用,雌性不育剂可以引起雄性动物产生抗凝血作用,而雄性不育剂可能通过改变激素水平而使雌性动物产生不育。

4.3 目前我国许多学者所选定的鼠类不育剂主要是雄性不育剂(张知彬等,1997;赵日良等,1994),主要作用方式是对睾丸造成损害,这与本研究所选定的雄性不育剂有相同的结果。同时本研究选定的雌性不育剂可造成雌性动物的胚胎吸收、死亡和流产。

4.4 在利用不育剂控制鼠类的研究中最大的问题在于适口性(Brooks 等,1971;Mischler 等,1971;Storm 等,1970;Marsh 等,1969)。从复合不育剂的适口性实验可以看到,高原鼠兔开始对毒饵量消耗较多,而后转为拒食,这与大仓鼠(*Cricetulus triton*)对 α -氯代醇的取食结果一致(张知彬等,1997)。尽管如此,高原鼠兔对复合不育剂的摄食系数仍达到 0.33。在现场灭鼠实验中也发现,每公顷投放 2.325kg 复合不育剂毒饵第 7 天检查时仍有少许毒饵残留在洞口。虽如此,复合不育剂对高原鼠兔的种群数量仍有较好地控制效果。

4.5 长期使用抗凝血杀鼠剂同样会产生抗药性,而不育剂和抗凝血剂混合使用有助于克服抗药性,同时亦可改进某些不育剂的适口性。不育剂控制鼠类主要期待于改变鼠类的出生率和种群结构。研究结果表明,实施不育剂前高原鼠兔种群内的性比为 1:1;而实施不育剂后由于密度极度降低,无法估计其性比,但产仔率明显降低,对照区中幼体密度为 95 只/hm²,成幼比为 0.6:1,不育种群内幼体的密度为 5 只/hm²,其成幼比为 0.45:1。赵日良等(1993)利用植物复合不育剂对森林害鼠棕背的防治中也发现幼体的比例极度降低。因此本实验所选定的复合不育剂可有效地控制高原鼠兔种群数量的增长,剂量低,对环境产生污染小,利用其控制高原鼠兔的危害有重要的经济、社会和生态价值。

参 考 文 献

- 1 汪诚信、潘祖安,1983. 灭鼠概论. 人民卫生出版社,265~266
- 2 林统先、曾缙祥,1988. 醋酸棉酚对褐家鼠抗生育作用的研究. 兽类学报,8(3):208~214
- 3 张知彬,1995. 鼠类不育控制的生态学基础. 兽类学报,15(3):229~234
- 4 张知彬、王淑卿、郝守身、王福生、曹小平,1997. α -氯代醇对雄性大仓鼠的不育效果观察. 兽类学报,17(3):232~233.
- 5 赵日良、张春美、张景福、张来、于波、倪田雨,1994. 应用植物不育剂控制森林害鼠种群密度的研究. 中国动物学会成立 60 周年纪念论文集. 北京:中国科学技术出版社,421~422

- 6 Brooks J E, Bowerman A M, 1971. Estrogedic steroid used to inhibit reproduction in wild Norway rats. *J. wildl. Manage.*, 35:444~449
- 7 Howard W E, Marsh R E, 1969. Mestranol as a reproductive inhibitor in rat and voles. *J. wildl. manage.*, 33:403~408
- 8 Kendel K E, Lazarus A, Rowe F P, Telford J M, Vallance D K, 1973. Sterilization of rodent and other pests using a synthetic oestrogen. *Nature*, 244(5411):105~108
- 9 Kirkpatrick J F, Turner W J, 1985. Chemical fertility control and wildlife management. *Bioscience*, 35(8):485~491
- 10 Marsh R E, Howard W E, 1969. Evaluation of mestranol as a reproductive inhibitor of Norway rats in garbage dumps. *J. wildl. manage.*, 33:133~138
- 11 Mischler T W, Welaj P, Nemith P, 1971. Biological evaluation of two estrogenic steroids as possible todent chemosterilants. *J. wildl. manage.*, 35:449~454
- 12 Storm G L, Sanderson G C, 1970. Effect of mestranol and diethylstilbestrol on captive voles. *J. wildl. manage.*, 34:835~843
- 13 Turner J W L R, Liu I K M, Kirkpatrick J F, 1992. Remotely delivered immunocontraception in captive white-tailed deer. *J. wildl. manage.*, 56(1):154~157

The Control Effect of Compound Sterilant on Population of Plateau Pika

Wei Wanhong¹ Fan Naichang² Zhou Wenyang¹

Yang Shengmei¹ Jing Zengchun¹ Cao Yifan¹

(¹ Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy, Xining 810001)

(² Department of Biology, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004)

Abstract: The female and male sterilants were selected for the plateau of pika which are low or no pollution on environment. The use amounts of LD₅₀ sterilant were 8.68mg/kg and 121.42mg/kg for female and male respectively. The use amounts of ED₅₀ sterilant were 2.11mg/kg and 43.69mg/kg for female and male respectively. The female sterilant LD₅₀ caused the endometrium bleed and weight decrease, then produced embryo abortion of absorption. The male sterilant ED₅₀ damaged spermatozoa, spermatid and spermatocytes in seminiferous, at the same time, the wall of seminiferous tubules became atrophy, deformities and thin obviously. When these two kinds of sterilants were mixed with dose of ED₅₀, the plateau pika's consumption coefficient was 0.33. And this compound sterilant was used to establish the infertile population of plateau pika in the fields, the results showed that the population density of experiment treated with compound sterilant decreased from 56 individual/hm² to 8 individual/hm², but the control population density increased from 54 individual/hm² to 138 individual/hm²; meanwhile the birth ratio of experiment population was significantly lower than that of control population.

Key words: Plateau pika (*Ochotona curzoniae*); Compound sterilant; Antifertility; Abortion