



高原鼢鼠对 D 型肉毒毒素的敏感性测定及小区防治试验

李生庆¹ 张同作² 张西云¹ 李志宁¹ 刘怀新¹ 林龚华²

(1. 青海畜牧兽医科学院, 西宁, 810016; 2. 中科院西北高原生物研究所, 西宁, 810001)

稿件运行过程

收稿日期: 2015-10-28
 修回日期: 2015-11-04
 发表日期: 2016-02-10

关键词: 高原鼢鼠;
 敏感性;
 D 型肉毒毒素;
 小区试验

Key words: Plateau zokor;
 Sensitivity;
 Botulinum toxin type D;
 Plot experiment

中图分类号: Q958.2
 文献标识码: A
 文章编号:
 2310-1490 (2016) 01-20-05

摘要:

首次采用霍恩氏法测定了野生高原鼢鼠对 D 型肉毒梭菌毒素的敏感性, 并以测得的 LD₅₀ 为依据, 在野外开展了不同浓度 D 型肉毒毒素防治高原鼢鼠的小区防治试验。通过试验测得 D 型肉毒毒素对高原鼢鼠的半数致死量 (LD₅₀) 为 5 840 MLD/mL, (可信线为 3 430-9 950 MLD 小白鼠/kg 体重), 高原鼢鼠对该毒素敏感, 其敏感性与高原鼠兔基本一致。小区试验结果表明 D 型肉毒颗粒毒饵防治效果最佳, 平均防治效果为 89.83%。可以用于大面积高原鼢鼠鼠害防治。

Sensitivity Analysis of Plateau Zokor *Myospalax baileyi* to D - type Botulinum Toxin

Li Shengqing¹ Zhang Tongzuo² Zhang Xiyun¹
 Li Zhining¹ Liu Huaixin¹ Lin Gonghua²

(1. Qinghai Academy of Veterinary and Animal Science, Xining, 810016, China; 2. Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Science, Xining, 810001, China)

Abstract: We adopted the Horn method to determine the sensitivity of wild plateau zokor *Myospalax baileyi* to the D - type botulinum toxin. Then based on measured LD₅₀, we carried out a control experiment using different concentrations of D - type botulinum toxin to kill the plateau zokor. We determined the the median lethal dose (LD₅₀) of D - type botulinum toxin for plateau zokor was 5 840 MLD/mL, (credible limits is 3 430 - 9 950 / MLD kg weight). Plateau zokor proved sensitive to the poison, and the sensitivity was similar to that of plateau pika *Ochotona curzoniae*. Plot experiment results showed that the pellet of D - type botulinum toxin was most effective with average effect of 89.8%. This method can be used for controlling damage caused by plateau zokor in large areas.

高原鼢鼠 (*Myospalax baileyi*), 因其长年生活于地下, 视力严重退化, 俗称“瞎老鼠”, 藏语称为“塞隆”。高原鼢鼠是一种活跃在海拔 2 800 m ~ 4 300 m

的耕地、草滩、森林和阳坡草场上, 靠啃食草根、茎为生的高寒草甸草原特有鼠种。其穴洞、鼠道星罗棋布, 所到之处草场、森林、退耕还林地多成了不毛之

第一作者简介: 李生庆, 男, 36 岁, 在读博士, 副研究员; 主要从事高原动物疫病诊断与防治及 D 型肉毒灭鼠剂的研制与应用工作。

地^[1]。据张生合报道，青海省鼢鼠危害面积 $1.09 \times 10^4 \text{ hm}^2$ ，其中青南和环湖地区危害最严重，形成了大面积寸草不生的“黑土”，造成了严重的经济损失^[2]。高原鼢鼠不仅掘翻土壤，埋没牧草，而且地下洞连片成网，坍塌冲失后表土流失，造成新土裸露，形成大片裸地和秃斑地，通过对高原鼢鼠的大力防治，可有效保护草地生态环境，有利于草地生境的恢复和改善，遏制草地进一步退化、沙化、“黑土滩”化，使草地生境趋于良性循环。

利用肉毒毒素进行鼠害防治已成为当前的一种趋势，肉毒梭菌神经毒素是由肉毒梭状芽孢杆菌产生的， 1 ng/kg 即可致死的剧毒毒素蛋白^[3]。这种毒素通过抑制神经递质——乙酰胆碱的释放，导致肌肉麻痹^[4]。其中 A-G 血清型中，A、B、E、F、G，可导致人的肉毒中毒，C、D 型主要引起鸟类和动物的肉毒中毒^[5]。D 型肉毒毒素灭鼠剂就是利用 D 型肉毒梭菌所产毒素经过过滤、除菌而成的一种大分子生物毒素蛋白灭鼠剂，具有无残留，不污染环境，无二次中毒，不伤害鼠类天敌的特点。

多年来，青海省利用 D 型肉毒毒素在防治高原鼠兔和高原田鼠方面积累了丰富的经验，防治技术日臻完善，但在高原鼢鼠防治方面，始终未能找到成功的防治方法和技术。本研究为应用 D 型肉毒灭鼠剂有效地控制高原鼢鼠对农业、林业及畜牧业的危害提供科学的理论依据。

1 材料与方 法

1.1 高原鼢鼠对 D 型肉毒毒素的敏感性测定试验

1.1.1 试验药品

D 型肉毒毒素颗粒毒饵 (10 万 MLD/g)、D 型肉毒毒素水剂 (毒价： 1000 万 MLD/mL 小白鼠静注，批号：20151003 批)，由青海畜牧兽医科学院提供。

1.1.2 试验动物

试验用野生高原鼢鼠捕捉自青海省大通县野外。在室内驯养 1 周后使用。

1.1.3 试验方法

本试验采用国际通用的霍恩氏法测定高原鼢鼠对 D 型肉毒毒素的 LD_{50} ，以每公斤体重灌服 2 150 MLD 、 4 640 MLD 、 10 000 MLD 、 21 500 MLD 的毒素量设置 4 个剂量组，每组 5 只动物，每 100 g 体重灌服 215 、 464 、 1 000 、 2 150 MLD 的毒素，饲喂甘蓝，观察 10 d，记录死亡情况。

1.2 D 型肉毒毒素防治高原鼢鼠的小区试验

1.2.1 小区试验地点

试验地位于青海省海南藏族自治州贵南县塔秀乡，地处西倾山与黄河之间 ($E100^{\circ}13' \sim 101^{\circ}33'$ ， $N35^{\circ}09' \sim 36^{\circ}08'$)，总面积 6 649.7 km^2 ，隶属于海南藏族自治州，约占全州总面积的 14.45% ，东与黄南藏族自治州泽库县为邻，南与本州同德县，西与兴海县和共和县，北与贵德县接壤。贵南县属高原大陆性气候，冬长夏短，冬无严寒，夏无酷暑，适宜发展草原畜牧业。年平均气温为 2.3°C ，年极端最高气温 31.8°C ，年极端最低气温 -29.2°C ，年降水量为 403.8 mm ，年平均日照时数为 2 907.8 h ，年平均蒸发量为 1 378.5 mm ；气温低，日照长，辐射强，降水集中，雨热同季，但降水不足，蒸发量大，属典型的高原大陆性气候；干旱、暴雨、冰雹、沙尘暴等气象灾害频繁。

1.2.2 样方设计

试验设 D 型生物灭鼠剂 A：D 型肉毒毒素颗粒毒饵 (2 万 MLD/g)、B： 0.10% D 型肉毒毒素青稞毒饵、C： 0.15% D 型肉毒毒素青稞毒饵、D： 0.20% D 型肉

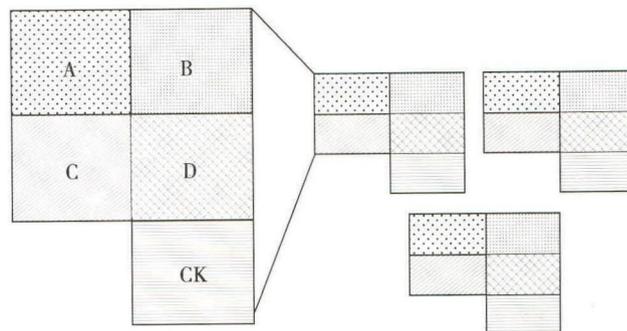


图 1 D 型肉毒毒素杀灭高原鼢鼠小区试验样方
Fig. 1 The draft of plot experiment about botulinum toxin type D kill the plateau zokor

- A: D 型肉毒毒素颗粒毒饵 (20 000 MLD/g)
- B: 0.10% D 型肉毒毒素青稞毒饵
- C: 0.15% D 型肉毒毒素青稞毒饵
- D: 0.20% D 型肉毒毒素青稞毒饵
- CK: 空白对照

黑色边框为 50 m 宽隔离带

- A: Poison bait of Botulinum toxin type D (20 000 MLD/g)
- B: 0.10% Density barley bait of botulinum toxin type D
- C: 0.15% Density barley bait of botulinum toxin type D
- D: 0.20% Density barley bait of botulinum toxin type D
- CK: blank control
- isolation belt

毒毒素青稞毒饵 4 个梯度及 CK: 空白对照。每小区面积 0.25 hm² (50 m × 50 m) 重复 3 次, 组间随机排列, 各浓度组两两隔开, 并设标志旗。中间设 50 m 宽的保护行, 外围设 50 m 宽保护行, 在行间及外围保护带均以 D 型肉毒毒素颗粒毒饵进行防治。

1.2.3 试验区鼠密度调查

以划定的样方为单位, 试验开始前, 将样方内所有新堆土堆铲平, 记录数据; 2 d 后, 再用红筷子标记新堆土堆数, 记录数据并计算该试验区内鼠密度概况。

1.2.4 毒饵配制

根据试验室内 D 型肉毒灭鼠剂对高原鼯鼠的适口性试验, 在 D 型肉毒毒素颗粒毒饵的基础上做适当调整, 配制颗粒毒饵, 用于高原鼯鼠的现地鼠害防治。

使用前, 按浓度梯度将 D 型肉毒毒素用注射器吸出、注入 80 mL 自来水中, 充分混匀; 将青稞倒入塑料小盆中, 把混匀的毒素均匀加入到饵料中, 边加边拌制, 使每一粒饵料都沾到毒素, 拌制完毕后将毒饵装入一塑料袋中, 闷置 12 h 后待用(配制见表 1)。

表 1 不同浓度毒素饵料配制方法

Tab. 1 The method of bait mixing with the different density toxin

组别 Group	毒素量 (mL) Toxin	加水量 (mL) Water	饵料 (kg) Bait	放置时间 (h) Time
0.10% 浓度组 0.10% Density groups	1.00	80	1.0	12
0.15% 浓度组 0.15% Density groups	1.50	80	1.0	12
0.20% 浓度组 0.20% Density groups	2.00	80	1.0	12

1.2.5 投药

采用有效洞投饵法, 在标有红筷子的有效土堆处投放不同浓度的毒饵, 根据有效洞探查、将投饵器深入到鼠道内, 通过投饵管将饵料投放于有效洞内, 每一洞投放饵料 10~15 粒, 投放后用物块将洞口封闭。投饵时将劳力每人间隔 5 m 左右排成一行边走边投, 队伍两边各派 1 人专做标记, 以防漏投和重投。在隔离带同样施饵, 1 d 内投完。

1.2.6 统计方法

防治前, 采用新鲜土堆插旗计数法计算灭效。

2 试验结果

2.1 D 型肉毒灭鼠剂对高原鼯鼠敏感性测定结果

试验测得, 1003 批 D 型肉毒毒素对高原鼯鼠的灌胃半数致死量 LD₅₀ 为 5 840 MLD/kg 体重, 可信限

为 3 430~9 950 MLD(小白鼠)/kg 体重。

表 2 D 型肉毒灭鼠剂对高原鼯鼠的灌胃半数致死量 LD₅₀ 测定

Tab. 2 The LD₅₀ about botulinum toxin type D to the plateau zokor

组别 Groups	动物数 Animal quantity	平均体重(g) Average weight	剂量 (MLD/kg) Dose	死亡数(只) Death count	结果 Results
1	5	212.2	2 150	0	0/5
2	5	230.6	4 640	3	3/5
3	5	208.8	10 000	3	3/5
4	5	254.6	21 500	5	5/5

2.2 小区防治试验结果

D 型肉毒毒素颗粒毒饵平均灭效为 89.93%, 0.10%、0.15%、0.20% D 型肉毒毒素 3 个浓度组的平均灭效分别为 80.6%、89.13% 及 87.73%, 而对照组平均灭效为 32.7%。小区试验结果表明, D 型肉毒毒素颗粒毒饵灭效最好, 其次为 1.5% D 型肉毒毒素水剂。

结论: 结合上述 D 型肉毒毒素灭鼠剂对高原鼯鼠半数致死量(LD₅₀)的测定以及小区防治试验, 采用 D 型肉毒毒素颗粒毒饵(20 000 MLD/g)或采用 0.15% 浓度 D 型肉毒毒素拌制青稞毒饵, 其灭鼠效果最佳, 可用于大面积高原鼯鼠的鼠害防治。

3 讨论与分析

3.1 高原鼯鼠、高原鼠兔(*Ochotona curzoniae*)及高原田鼠(*Neodon irene*)是青藏高原农牧区危害最为严重的 3 种害兽, 据统计, 仅青海省鼠害每年可消耗草地鲜草量 108.49 亿 kg, 因挖掘洞坑损耗的鲜草量 4.56 亿 kg, 按每公斤鲜草 0.1 元计价, 每年仅新鲜牧草一项直接经济损失就是 11.3 亿多元^[6]。因此, 无论是从生态系统安全还是从畜牧业经济角度上讲, 鼠害问题都是青藏高原发展的关键问题。而目前, 在利用 D 型肉毒毒素防治高原鼠兔、高原田鼠方面已经做了大量的试验研究, 试验结果表明, 利用 D 型肉毒毒素生物灭鼠剂防治上述害鼠既能保证较高的灭效(平均在 90% 以上), 又能避免环境污染、二次中毒等弊端。因此, 本试验采用霍恩氏法测定了 D 型肉毒毒素对高原鼯鼠的灌胃半数致死量(LD₅₀), 有试验结果得知其 LD₅₀ 为 5 840 MLD/kg 体重, 其敏感性与高原鼠兔基本相当(高原鼠兔 LD₅₀ 为 5 010 MLD/kg 体重), 因此本试验首先从理论上证明了 D 型肉毒毒素作为防治高原鼯鼠具有一定的可行性。

表 3 不同浓度 D 型肉毒灭鼠剂对高原鼯鼠的灭杀效果(0.25 hm²)Tab. 3 The effect of different density botulinum toxin type D killing the plateau zokor(0.25 hm²)

处理 Manage	重复 Repeat	防前土堆数 The count of mound before prevent	新堆土堆数 The new mound	防后新土堆数 The count of new mound after prevent	灭效(%) Effect	平均灭效(%) Average effect
A	I	87	13	0	100.0	89.83
	II	78	9	2	77.8	
	III	73	12	1	91.7	
B	I	57	8	1	87.5	80.06
	II	56	11	3	72.7	
	III	47	10	2	80.0	
C	I	69	9	1	88.9	89.13
	II	75	15	2	86.7	
	III	53	12	1	91.7	
D	I	50	8	1	87.5	87.73
	II	68	10	1	90.0	
	III	84	14	2	85.7	
CK	I	44	11	8	27.3	32.70
	II	39	8	5	37.5	
	III	56	12	8	33.3	

注: A 为颗粒毒饵, B 为 0.10% 浓度组, C 为 0.15% 浓度组, D 为 0.02% 浓度组, CK 为空白对照

Note: A: Poison bait, B: 0.10% Density group, C: 0.15% Density group, D: 0.20% Density group, CK: Blank control

3.2 高原鼯鼠是一种啮齿类野生动物, 其野外捕捉及实验室驯养十分困难, 我们通过本次试验中高原鼯鼠的现场抓捕并结合高原鼯鼠的相关习性, 专门研制了一种高原鼯鼠野外活体捕捉定位仪, 该仪器大大地提高了活体高原鼯鼠的抓捕效率, 节约人力, 保证了试验用鼠的按时供给, 该设备正在申请国家实用新型专利, 并已受理。另外, 高原鼯鼠在实验室驯养过程中, 建议在饲养笼内防治一定厚度的较湿润的泥土, 不仅保证了高原鼯鼠的生活环境没有太大的改变, 而且高原鼯鼠在泥土中不断拱土, 也能提高其运动活力。驯养期间, 我们还利用本实验室自制的颗粒饵料进行饲喂, 适口性良好, 大大改善了高原鼯鼠的营养状况, 在很大程度上降低了高原鼯鼠的自然死亡率, 保证了试验数据的精确性。

3.3 据唐忠民等的研究报道^[7], 一年中, 高原鼯鼠

有两个活动盛期, 4~6 月为第一活动盛期, 主要为寻求配偶、交配、产仔和哺乳行为。第二活动盛期为 9~10 月底, 用于建窝修巢储备越冬食物。两个活动盛期即为危害盛期, 推土造丘和啃食牧草对草原形成剧烈破坏, 因此, 对于高原鼯鼠的防治时间一定要选在高原鼯鼠活动频繁的季节, 即 4 月中下旬~5 月 10 日前的交配高峰期和越冬前贮备食物的秋季-初冬时期。这两个时期高原鼯鼠活动时间长、范围广, 是灭治高原鼯鼠的最佳时期。特别是交配高峰期时的灭治, 基本上人为地切断了高原鼯鼠的繁殖链, 对高原鼯鼠防治起到事半功倍的作用。张同作等研究表明^[8], 春季时候, 高原鼯鼠经过一个冬季的消耗, 其洞内贮存的食物已消耗殆尽, 其体能极大的下降。因此在春季土地解冻之后, 它迅速而频繁地出外取食, 借以补充体能并得以迅速恢复。而这个时候它能够

摄取的食物非常有限,这就迫使高原鼯鼠必须通过更频繁的活动和更长距离的移动来达成目的,因此,它被灭杀的几率就更大。另外,因为春季正值高原鼯鼠繁殖高峰期,它们追逐异性、交配等一系列的繁殖行为必然增加它们的活动量,因而导致它们被灭杀。而在秋季时节,高原鼯鼠的繁殖活动已全部结束,体能也得到最大限度的恢复和发展,此时外界食物丰富,它们的活动必然减少,因此被杀灭的几率大大下降。在实际生产中,防治高原鼯鼠的季节应以春季为先,此次小区防治试验我们选择于5月上旬进行药物投放,灭鼠效果较理想。

3.4 高原鼯鼠相较于高原鼠兔及高原田鼠,最大的特点在于它常年生活在地表之下,无法准确判断其具体的生活区域,那么利肉毒毒素灭鼠剂进行高原鼯鼠的大面积鼠害防治,防效高低的关键是能否准确的找到有效的鼠道,并将毒饵投放于害鼠活动的洞道内,这样才能保证害鼠采食到毒饵。因此,一般是根据新鲜土丘与新鲜土丘之间的连线来判断高原鼯鼠的鼠道走向,在此连线的土堆附近,可用投饵探棒进行鼠道探查,探棒深入土层5~10 cm后,阻力若突然减少,即为洞道,可投放毒饵。在进行鼯鼠活体抓捕时,也可用铁铲铲开洞道,观察洞道上高原鼯鼠挖掘时,鼻

吻拱土留下的半月形的吻印,吻印深的一方或洞道壁草根指向的一方就是高原鼯鼠离开主巢,外出活动的方向,只要把抓捕器安放在这个方向的洞道口,外出活动后回巢的高原鼯鼠即被捕捉。

参考文献:

- [1] 刘立锴. 浅谈青海省高原鼯鼠防治[J]. 青海草业, 2013, 22(2): 36-38.
- [2] 张生合, 任程, 陈国民, 等. 青海省草地鼠害防治及今后设想[J]. 青海草业, 2001, 10(2): 22-24.
- [3] Lamanna C. The most poisonous poison [J]. Science, 1959, 130(130): 763-772.
- [4] Habermann E, Dreyer F. Clostridial neurotoxins: handling and action at the cellular and molecular level [J]. Current Topics in Microbiology & Immunology, 1986, 129(4): 93-179.
- [5] Takeda M, Tsukamoto K, Kohda T, et al. Characterization of the neurotoxin produced by isolates associated with avian botulism [J]. Avian Diseases, 2005(49): 376-381.
- [6] 赵琴, 王菊梅, 宋维琴. 青藏高原草场鼠害防治新技术 [J]. 中小企业管理与科技, 2012(15): 196-197.
- [7] 唐忠民, 刘承毅. 高原鼯鼠的最适生境及其活动规律研究与防治策略 [J]. 草业与畜牧, 2014(1): 16-17.
- [8] 张同作, 雷晓水, 崔庆虎, 等. 两种新型方法防治高原鼯鼠的比较研究 [J]. 西北林学院学报, 2007, 22(1): 102-105, 108.