

溫度和葯物对兔球虫卵囊发育之影响

江 静 波 廖 月 霞

(生物系)

兔球虫和寄生其他动物的球虫一样，都是借粪便中的卵囊来传播的。一般兔球虫在外界須經24小时以上始能成熟(4)，若每日能将兔籠中的卵囊彻底清除一次，定能有效地防止兔球虫病的流行。因此兔球虫卵囊对溫度、葯物的抵抗力的研究，供兔籠消毒的参考，在兔球虫病的防治上是有其重要意义的。

Perard (1925)首先指出穿孔艾美球虫(*E. perforans*)和兔肝艾美虫(*E. stiedae*)对許多酸、硷及盐类有很强的抵抗力(14)。嗣后 Yakimov and Galouzo (1929)研究牛球虫时也涉及了牠们对化学葯物的抵抗力問題(16)。Fish (1931)研究了鸡球虫中的一种(*E. tenella*)对于溫度和葯物的忍受能力(12)。近年来 Senger and Seggett (1954)、Marguardt and Senger (1955)以及 Senger (1959)都探討了化学葯物对牛球虫卵囊发育的影响(15)。

1956年苏联 Орлов 在“家畜球虫病”一书中(11)，总结了苏联学者们在这方面的許多研究工作，包括 Yakimov und Galuzo (1929)，Yakimov (1932, 1933)，Видинский (1938)，Левинсов и Федоров (1936)以及他本人和他的合作者 (1936, 1940)的研究，指出了高溫对于卵囊的影响，材料尚未一致，而大量的資料都証实了兔球虫卵囊对化学葯物的甚大的抵抗力。书中还引用了 Мележик (1941)等的总结，认为化学消毒剂杀灭了能抑制卵囊发育的細菌，从而反有利于卵囊的发育。书中还介绍了作者认为最有效的消毒剂，即肥皂——石碳酸——煤油乳剂，认为能100%地阻止了卵囊内孢子的发育而且将大部分的卵囊破坏。

我国农业部畜管局编写“怎样养兔”一书，介绍用碱水、石灰、石碳酸、来苏儿或噴灯等消毒兔籠的方法(6)。黄惠兰 (1957)认为除沸水和压力蒸气是最好的消毒方法外，5%的苛性鉀或苛性鈉也是有效的(9)。孙琪 (1958)介绍用5%的热碱水消毒(5)。北京师范大学生物系兔球虫研究小组 (1959)对溫度和葯物对兔球虫卵囊的影响也做了研究(3)。

本文研究的目的，主要在供消毒兔籠时的参考。因此我們在探討溫度对兔球虫卵囊发育的影响时，分別用不同溫度的热水，干烘，噴灯噴射和太阳照射等方式进行試驗；在研究葯物对卵囊发育之影响时，除了重复部分前人研究过的葯物外，还用一些杀虫剂，土农葯和中葯做試驗。不过我們用中葯如蒼檳合剂、羌、大蒜做試驗时，却不是考虑到是否可用它作消毒用的問題，而是因为洋葱(2)蒼檳合剂和羌根据別人的研究或我們的試驗在治疗兔球虫病方面有相当效果，我們也就順便探討一下它們对兔球虫卵囊的发育是否有抑制作用。蒼檳合剂(枣几檳榔一两，蒼耳全草二两合煎濃縮成60毫升)是从广州市中医学院張景述医师处取得的，張景述初步肯定对日本血吸虫有疗效。我們用作治疗兔球虫病經初步观察效果良好。羌对兔球虫病也有一定的疗效(江静波、邝超源等，未发表資料)。

本文承陈心陶教授关怀和指导，邝超源同志协助試驗工作。謹致謝忱。

一、热水对卵囊發育的影响

取100毫升燒杯，盛30毫升的清水，徐徐在酒精灯之上加热，并不断用溫度計拌攪。至一定溫度时，用滴管吸取用過濾、沉淀法濃集得的含有大量新鮮卵囊的兔糞液数滴注入其中，仍用溫度計不停拌攪，注意使其溫度降低不超过一度。至規定時間时，立即冲入大量冷水，使溫度急降至30°C左右。随即将这些經处理的卵囊沉淀出来，放在2%重鉻酸鉀溶液中培养，經4—5天之后观察。如处理時間較長者，則將燒杯放在盛温水的金屬皿中，外面外熱，使其水溫与所要求的燒杯內的水溫相等，这样可使燒杯內的水溫更加均匀。此法的优点在于水量多，加入少量糞液不至使溫度銳降，影响試驗的准确性。同时用大量的冷水降溫可以迅速而确实地掌握处理時間。試驗的結果見表一：

表一：热水对卵囊发育的影响

溫度	時間(分)	次數	E. perforans 穿孔球虫		E. irrisidua 无余体球虫		E. coecicola 腔球虫		E. stiedae 兔肝球虫		總計		
			发育	不发育	发育	不发育	发育	不发育	发育	不发育	发育	不发育	发育百分率
70°C	10 (秒)	一	0	36	0	15	0	16	0	13	0	80	0
60°C	60	一	0	37	0	23	0	4	0	6	0	70	0
		二	0	20	0	27	0	6	0	1	0	54	0
	30	一	0	20	0	27	0	6	0	1	0	54	0
		二	0	36	0	19	0	64	0	3	0	122	0
	15	一	45	5	7	0	7	2	3	1	62	8	88.6
		二	40	3	16	0	40	6	4	0	100	9	91.8
55°C	60	一	0	42	0	24	0	10	0	11	0	87	0
		二	0	37	0	24	0	3	0	2	0	66	0
	30	一	0	37	0	24	0	3	0	2	0	66	0
		二	1	40	3	6	6	50	—	—	10	96	9.4
	15	一	86	5	45	0	20	1	11	1	162	7	95.8
		二	40	2	20	0	40	2	3	0	103	4	96.2
50°C	60	一	1	45	5	14	0	2	—	—	6	61	89.5
		二	2	35	8	6	25	42	1	2	36	85	29.8
	30	一	17	2	27	1	7	0	9	0	60	3	95.2
		二	3	30	1	1	6	40	1	3	11	74	12.9
	15	一	65	6	30	1	16	0	20	2	131	9	93.6
		二	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
对照		一	35	3	45	2	17	0	16	3	113	8	93.4
		二	50	2	34	3	50	3	9	3	143	11	96.1

由上表可見，經70°C处理10秒鐘，60°C处理30分鐘，55°C处理60分鐘，四种兔球虫的卵囊皆基本不能发育。經55°C处理30分鐘者，至少有90%以上的卵囊不会发育。四种卵囊对高温的忍受能力无显著的差别。

Opłob(11)指出：“关于高温对卵囊的发育的影响的材料，是不一致的”。我們认为所以不一致的原因可能有两方面：(1)不同种或不同地区的卵囊对高温的忍受能力有所差异。(2)处理的方法不同影响结果的不一致。現我們以对于兔球虫的試驗为例。Kessel and Jankiewicz (13)試驗的结果其致死点为51°C 30分鐘；53°C, 10分鐘；55°C, 5秒鐘。而北师大生物系兔球虫研究小组(3)所得的结果：75°C以上，半分鐘；70°C, 5分鐘, 65°C, 5分鐘不能杀死卵囊。两者结果相差甚大。前者未說明試驗方法，在此不能予以討論。后者是在凹玻片上处理的，处理時間若甚短促，温度变化可能大些。70°C时須5分鐘始能杀死卵囊的結論，可能比实际所需的时间长些。Opłob (11)认为将水加热至50-60°C，作用60分鐘，部分卵囊以后还可以形成孢子。我們的结果是，在60°C中只須30分鐘便可使全部卵囊死亡。Fish(12)认为在60°C中，只須15秒鐘可使*E. tenella*的卵囊死亡，在55°C，10分鐘內全部卵囊死亡。可能是*E. tenella*对高温的忍受力較兔球虫为小的緣故。

二、干燥对卵囊发育的影响

把含有兔球虫卵囊的粪便加少許水，稀释成糊状，涂在紙上，然后放在恒温台上或溫箱中，用一定溫度焙烘它。在一定時間內取出，在2%重鉻酸鉀溶液中培养，其結果見表二：

溫度	時間 (分)	結 果			備 注
		发 育	不发育	发育%	
60°C	60	0	70	0	恒温箱
	30	0 0	54 122	0 0	同 上
	15	62 100	8 9	88.5 91.7	同 上
55°C	60	0	87	0	同 上
	30	0 10	66 96	0 9.4	同 上
	15	162 103	7 4	95.8 96.2	同 上
50°C	60	6 36	61 85	8.9 29.7	恒温箱 溫 台
	30	60 11	3 74	95.2 12.9	恒温箱 溫 台
	15	131	9	93.5	恒温箱
对 照		113	8	93.3	
		143	11	92.8	

表二：干燥对兔球虫卵囊发育的影响

由上表可見，在 50°C — 60°C ，15分鐘內都无法使卵囊死亡。在 60°C 經30分鐘， 55°C 經60分鐘，則全部卵囊可以死亡。在 55°C 經30分鐘后，至少有90%的卵囊死亡。其結果與熱水處理組完全一致。

三、日光照射对卵囊發育的影响

將含有兔球虫卵囊的糞漿塗在紙上，然後放在一塊木板上，在廣州四月份天晴的時候放在太陽光直接照射下，其旁置一溫度計，其溫度達 $37-42^{\circ}\text{C}$ 。在此情況下，雖經1小時或2小時半，用2%重鉻酸鉀培養時還有約半數的卵囊能夠發育，其結果見表三：

表三. 日照对兔球虫卵囊发育的影响

日照時間	溫 度	处理后各种卵囊发育的情况		
		发 育	不发育	发育%
对 照	室 溫	105	10	91.3
1 小时	$37-42^{\circ}\text{C}$	37	46	44.6
2 时30分	$37-42^{\circ}\text{C}$	54	62	47.4

Орлов(11)指出卵囊对日光的作用有极大敏感性，日光能在数小时内杀死卵囊。从上表看来，亦可見日光对卵囊的影响也是相当大的。不过經二小時半的作用，仍未能將卵囊全部消灭。在南方兔球虫流行的4、5月間，亦即多雨的季節，难得有整日的阳光照射。此时用阳光消毒，还是有一定的困难。

四、噴灯噴燒杀滅卵囊的試驗

好些家畜寄生虫学(10)和养兔学(6)介紹用噴灯来消灭兔籠中的卵囊，藉以达到預防的目的。为了准确地了解噴灯燒杀卵囊的效果我們做了如下的試驗：將含有卵囊的兔糞液在木板上塗成一薄层，稍干之后，用本生酒精噴灯在距离7厘米的地方慢慢的来回噴燒。到达要求的次数之后，將木板上的兔糞連同卵囊刮下，在2%的重鉻酸鉀中培养。其結果見表四：

表四：噴灯噴燒对兔球虫卵囊的影响

距 离	次 数	处理后卵囊发育情况		
		发 育	不发育	发育%
对 照	—	105	6	94.5
7 c m	5 次	80	13	86.0
7 c m	10 次	19	56	25.3
7 c m	20 次	1	38	2.5

由上表可見，来回噴射5次之后，效果仍不显著。达20次之后，仍有2.5%的卵囊会发育。可見用噴灯消毒兔籠的办法不一定很好。此外燃料的消耗也是不合算的。

我們另做一試驗，將含有卵囊的兔糞液涂在木板上，直接在炉火上的火焰下燒烤，半分鐘之內，全部卵囊不會发育。一分鐘之後，完全看不到卵囊了。用這種方法消毒的效果顯然是很大的，但是必須注意引起燃燒的問題。

五、藥物对卵囊发育的影响

將藥物配成一定濃度，倒入培养皿中，浸些少棉花在其中，棉花上托一塊濾紙，濾紙上放一些含有卵囊的兔糞，讓藥液透過濾紙浸着兔糞。最初最好用滴管吸一些藥液淋在兔糞上，以免兔糞中的水分影响藥物的濃度。4—5天後用顯微鏡檢查。先計算对照組卵囊40(或30)个，視其发育成孢子的个数，以此数为100%，然後計算40(或30)个經藥物处理的卵囊，計其发育成孢子的个数。以处理組发育成孢子的卵囊个数給对照組发育成孢子的卵囊的个数除，再乘100，求得藥物处理組和对照組的比发育百分率。具体数字見表五：

表五

藥 物	濃度 %	对兔球虫卵囊抑制結果 (和对照組比发育%)							
		穿孔艾美虫				兔肝艾美虫		无余休艾美虫	
次 数		一	二	三	四	一	二	一	
羌	20/130	0	3.5	6.6		25	0	6	
蒼栢合剂		0	6.6			0		6.2	
大 蒜	23/130	84.2				103.5			
魚藤精	10	10.5	0	6.6		0	0	6.2	
魚藤精	5	13.5						31.2	
6 6 6	1	52.6				53.5			
6 6 6	5	0	41.3	6.6	0	25	0	56.2	
6 6 6	15	0							
D.D.T.	5	57.8				42.8			
敌百虫	5	100	95			90.4			
敌百虫	10	105.2				103.5			
敌百虫	15	84.2	65			96.4			
生石灰	飽和	93.1	89.6	93.1	103.4				
来 素	5	0	6.6	45		6.2		25	
来 素	10	5.2	0	0		0	0	0	
来 素	15	0				0			
臭 水	5	46.6	45	42.5		0		87.5	

臭 水	10	33.3	42.5			25		100	
臭 水	15	65							
盐	10	93.3	35	97.5	77.5	93.7			
盐	30	25	10						
盐	飽和	0	0						
酒 精	15	75							
酒 精	50	12.5							
酒 精	70	0	50	7.5		0		0	
福麻林	6	53.3	77.5			75	56.2	62.5	
氫氧化鈉	5	51.7	33.3	62.5		106.2			
氫氧化鈉	10	0	0			0		0	
硫酸鈉	0.01	33.3	112.5			60.7	87.5	81.2	
硫酸銨	1	60	107.5			94.4	87.5	106.2	
氯化汞	0.000027	60				53.5		12.5	
碘	0.025	110				103.5			

由上表可見，若認為和對照對比發育百分率在60%以下者為有效，則有效藥物及其濃度為：羌(30/130)，蒼楨合劑、魚藤精(10%，5%)，可濕性含丙體6%的666(1%，5%，15%)，D.D.T. (5%)，來素(5%，10%，15%)，鹽(30%、飽和)，酒精(50%，70%)，氫氧化鈉(10%)，氯化汞(0.000027%)。

極有興趣的是，我們用羌、蒼楨合劑和大蒜治療人工重感染的兔球虫病，發現蒼楨合劑效果甚佳，羌亦有一定功效(江靜波、鄺超源等，未發表資料)。从上表可見此二藥對卵囊發育的抑制效果亦甚佳。大蒜完全無療效，而對卵囊的發育亦完全無抑制的作用。從這三種藥物來看，它們對兔球虫的內生性發育和外生性發育的影響是一致的。

經氫氧化鈉處理的卵囊，其有色的外囊壁似已完全被溶解，因此只見一層極薄和透明的內壁。部分可以發育的卵囊，其內的孢子也不正常。更值得注意的是，兔肝球虫卵囊對氫氧化鈉的抵抗力顯然比其他球虫強得多。在5%氫氧化鈉中，和對照比對發育的百分率竟為106.2%。肝是鹼性的地方，因此在那里形成的卵囊對鹼性的抵抗力特別強可是以理解的。

北京师范大学生物系兔球虫研究小组(3)认为饱和盐水无抑制卵囊发育的作用。我们的结果完全相反,饱和盐水对卵囊有100%的抑制作用,而且使卵囊内容物显著收缩。可是在30%的浓度中,则仍然有小部分的卵囊可以发育。

0.025%碘液,完全无抑制卵囊发育的作用。这一点和Senger(15)的结果不符。

摘 要

用热水处理兔球虫卵囊,其致死温度为:70°C,10秒钟;60°C,30分钟;55°C,60分钟。经55°C处理30分钟者,至少有90%以上的卵囊不会发育。对温度的耐受能力,四种兔球虫(*E. perforans*, *E. irresidua*, *E. Coecicola*, *E. stiedae*)无甚差别。

干烘加热对卵囊的作用,和热水的作用一致。

用日光照射,经2时半,约有半数的卵囊仍会发育。

酒精喷灯喷烧杀灭卵囊的效果不佳。来回喷射涂兔粪液的木板,经5次之后,对卵囊杀灭的效果仍不显著。但直接在火焰上烧烤,半分钟内即可杀灭涂在木板上兔粪液中的全部卵囊。

苍楨合剂和羌对抑制兔球虫卵囊的发育效果甚佳。此二药用作兔球虫病的治疗亦初步证实其效果颇好。大蒜无抑制兔球虫卵囊发育的作用,同时在治疗兔球虫病上亦完全无效。由上三种药物对比看来,它们对兔球虫内生性发育和外生性发育的抑制作用是一致的。

羌(30/130),苍楨合剂,鱼藤精(10%,5%),可湿性含6%丙体666(1%,5%,15%),D.D.T.(5%),来素(5%,10%,15%),盐(30%、饱和),酒精(50%,70%),氢氧化钠(10%),氯化汞(0.000027%),都能抑制40%以上的卵囊的发育。

用氢氧化钠处理,使其外层卵囊壁消失。兔肝球虫对氢氧化钠的抵抗力显然较其他卵囊为强。兔肝球虫卵囊是在硷性较强的肝脏中形成的,这可能是它较其他卵囊对硷性有較大忍受力的主要原因。

与北京师大生物系兔球虫研究小组不同,我们观察到饱和盐水对兔球虫卵囊有100%的抑制作用。与Senger研究的结果不同,我们发现0.025%的碘液完全无抑制卵囊发育的作用。

参考文献

- (1) 王占一：“实用养兔法”1958
- (2) 王珊，楊康年：洋葱对家兔球虫疗效的初步观察。畜牧与兽医。1958年第6期。270—272頁
- (3) 北京师范大学生物系兔球虫研究小组：不同条件对兔球虫卵囊发育的影响。北京师范大学学报，自然科学版。1959年第6期83—89頁
- (4) 江静波、廖月霞：广州市九种寄生家兔艾美虫卵囊的研究。中山大学学报。自然科学版 第8期 57—67頁。1959
- (5) 孙琪：中药“球虫九味散”对兔球虫治疗效果。中国兽医学杂志。1958年第11期 533—535頁
- (6) 农业部畜医局：“怎样养兔”。1958.
- (7) 苏联家兔野兽科研所：“养兔学”。1955.
- (8) 陕西省畜产公司，陕西农林厅畜牧局：“养兔”。1958
- (9) 黄惠兰：家兔球虫病防治方法。生物学通报。1957年第二期32—35頁
- (10) Ершова, B.C.: “家畜寄生虫学与侵袭病”。1956(王述誥等译)。
- (11) ОРЛОВ, Н.П.: “家畜球虫病”。1956(吴尙文，柳桂信译)。
- (12) Fish F.F.: The effect of physical and chemical agents on the oocysts of *Eimeria tenella*. Science 73, NS. 292—293. 1931
- (13) Kessel J.F. and Jankiewicz H.A.: Species differentiation of the coccidia of domestic rabbit based on a study of the oocysts. Amer. Jour. Hyg. 14 (2). 304-324. 1931
- (14) Perard, C.: Recherches sur des Coccidies et les coccidiosis du lapin. II. contribution a l'etude de la biologie des oocystes de coccidies. Ann. Inst. Pasteur 39. 505-542
- (15) Senger, C.M.: Chemical inhibition of sporulation of *Eimeria bovis* oocysts. Exp. Parasit. 8 (3). 244-248. 1959
- (16) Yakimov, V. L. und Galuzo, I. G.: Zur Frage uber Rindercoccidien. Arch. Protistenk. 58. 185-200. 1927

The effect of heat and certain chemicals
and Chinese drugs on sporulation
of the rabbit coccidia

C.P. Chiang and Y.H. Liao

In the present paper, the thermal death points of the oocysts, the effect of sunlight on sporulation and the efficiency of Bunsen burner for sterilization were studied. “Xanthium-Areca Complex” (Chinese drug) and ginger appeared to have a good effect on the inhibition of both the exogenous and the endogenous development of the parasite. Dilute NaOH (5%) dissolved off the outer wall of the oocyst within which the spore might still develop. *Eimeria stiedae* had higher resistance against NaOH than the other species of the domestic rabbit.