

皂荚提取物的杀螺活性

张学学⁺, 张雪⁺, 徐楷杰, 胡鑫, 徐汉虹^{*}, 田永清

亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室/天然农药与化学生物学教育部重点实验室,
华南农业大学, 广东 广州 510642

摘要:【目的】研究皂荚生物农药活性, 开发利用皂荚资源, 发展环境友好的绿色植物源农药。【方法】采用室内生测和田间试验研究皂荚壳乙醇提取物的杀螺活性。【结果】皂荚提取物对福寿螺有显著的毒杀活性, 对幼螺和成螺 72 h 的 LC_{50} 分别为 40.56 、 109.83 $mg \cdot L^{-1}$ 。田间试验表明, 皂荚提取物对福寿螺有较好的防效, 施用 $40 g \cdot m^{-2}$ 的皂荚提取物处理 7 d 后卵块减少率为 100.00% (成螺失去产卵的能力), 防效为 $(99.12 \pm 1.26)\%$ 。【结论】皂荚提取物对福寿螺较好的生物防治效果, 是一种潜在的生物杀螺剂。

关键词: 皂荚; 福寿螺; 杀螺活性; 田间防效



开放科学标识码
(OSID 码)

Activity of *Gleditsia saponin* extract on *Pomacea canaliculata*

ZHANG Xuexue⁺, ZHANG Xue⁺, XU Kaijie, HU Xin, XU Hanhong^{*}, Tian Yongqing

State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources,
/Key Laboratory of Natural Pesticide & Chemical Biology Ministry of Education,
South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China

Abstract: 【Aim】 Systematic investigation of the biological pesticide activity of ethanol extract from the shell of *Gleditsia sinensis* Lam (Leguminous *Gleditsia*) extracts could contribute to the utilization of *G. sinensis* resources and the development of plant-derived pesticides. 【Method】 Laboratory and field molluscicidal activity of *G. sinensis* extract ethanol extract from the shell of *G. sinensis* was determined via immersion tests. 【Result】 *G. sinensis* extract showed significant molluscicidal activity against *Pomacea canaliculata*, with an LC_{50} of 40.56 $mg \cdot L^{-1}$ for young snails and 109.83 $mg \cdot L^{-1}$ for adult snails after 72 h. The field experiment demonstrated that the egg mass was reduced by 100.00% (the adults were unable to lay eggs) and the control effect was $(99.12 \pm 1.26)\%$ after $40 g \cdot m^{-2}$ of *G. sinensis* extract was applied for 7 days. 【Conclusion】 *G. sinensis* extract had remarkable molluscicidal activity and a good control effect on *P. canaliculata*. Consequently, it is a potential botanical molluscicide.

Key words: *Gleditsia sinensis*; *Pomacea canaliculata*; molluscicidal activity; field efficacy

福寿螺 *Pomacea canaliculata* (Lamarck) 为瓶螺科福寿螺属软体动物, 原产于南美洲的普拉塔流域和亚马逊河流域 (Yang *et al.*, 2018), 已成为我国最重要的外来入侵物种之一 (环保总局和中科院, 2003), 目前已蔓延至我国 $30^{\circ}N$ 以南地区 (张海涛等, 2016), 且正以每年 $8 \sim 10$ km 的速度向北蔓延 (俞晓平等, 2001)。福寿螺可造成水稻 *Oryza sativa* L. 减产 90% (叶建人等, 2015)。其次, 福寿螺入侵

我国后, 由于缺少天敌而大量繁殖, 导致生态系统失衡, 对本地的生态系统造成不可逆的破坏 (曾婷婷等, 2020)。此外, 福寿螺还是广州圆管蛭 (*Angiostrongylus cantonensis* (Chen) 的中间宿主, 严重威胁人类健康 (黄达娜等, 2017)。目前, 防治福寿螺主要使用化学技术, 化学药剂种类较少, 长期大规模使用单一化学药剂, 易污染水体、破坏水生生态系统, 同时还易使福寿螺产生抗药性。因此安全、

收稿日期 (Received): 2021-09-22 接受日期 (Accepted): 2022-04-26

基金项目: 广东基层农技推广体系改革与建设补助项目 (F21050)

作者简介: 张学学, 男, 博士研究生。研究方向: 植物源农药。E-mail: 18372378757@139.com; 张雪, 女, 博士研究生。研究方向: 植物源农药。E-mail: 15764380475@163.com

⁺ 同等贡献作者 (The two authors contributed equally to this work)

^{*} 通信作者 (Author for correspondence), 徐汉虹, E-mail: hhxu@scau.edu.cn

高效、环保的福寿螺防治技术成为人们关注的方向,植物源杀螺剂的研制是其中重要的一个研究方向(Brito & Joshi, 2016)。国内外的学者已经筛选了 1500 多种植物的杀螺活性(Baptista *et al.*, 1994),并研制出了一些对非靶标生物安全、易降解、高效的植物源杀螺剂(Joshi *et al.*, 2008; Seuffert & Martin, 2010)。

皂角 *Gleditsia sinensis* Lam, 又名皂荚,为豆科皂荚属落叶乔木或小乔木,在我国分布广泛。贵州毕节市大力发展皂角产业,目前在当地已种植皂角 3.7 万 hm^2 ,形成了年产值约 1 亿元的皂角产业。皂角中含有大量的皂苷类物质,特别是皂角果荚中的皂苷含量可达 15.27%~20.43%(李建军等, 2018)。目前,大多数学者都聚焦于皂角抗病毒(Li *et al.*, 2007)、抗癌(Cai *et al.*, 2018, 2019; Shin *et al.*, 2019; Yi *et al.*, 2012, 2015; Yu *et al.*, 2015, 2019; Zhang *et al.*, 2020)、抗炎(Ha *et al.*, 2008)等方面的药理活性,关于杀螺方面的研究较少;且目前皂角产业主要生产具有食用价值的皂角仁(又名雪莲子),而皂角仁只占整个果荚的 8%左右,其副产物的利用度不够。为促进皂角资源的综合利用,本文开展皂角各部位杀螺活性的研究,并发现皂角果荚提取物具有显著的杀螺活性,为皂角植物源农药的开发与利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试样品采集

室内试验所用福寿螺成螺于广东省广州市天河区启林农场的水渠中采集,于室内培养 3 d 后备用;幼螺为成螺产卵孵化 7 d 后备用。大田试验于湖北省荆州市荆州区的水稻田间进行。皂荚采集于贵州省毕节市织金县猫场镇。

1.2 皂荚提取物制备

5.2 kg 皂荚干燥后粉碎过 40 目筛,使用 70%乙醇超声浸提 3 次,减压浓缩即得 1375.9 g 皂荚提取物。

1.3 皂荚提取物对福寿螺的毒杀活性

1.3.1 皂荚乙醇提取物对福寿螺幼螺的毒杀活性

在塑料培养箱中开展皂角提取物对福寿螺幼螺的毒杀活性研究,安排空白组(纯水)、20、40、60、80 以及 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 皂荚乙醇提取物 6 个处理组,各组设置 3 个重复。培养缸内药液深度 3 cm,每个培养缸内 25 只福寿螺幼螺(8 mm<螺高<15 mm)。试验期间正常喂食生菜,上爬个体再推回水中,分别

记录处理后 24、48 及 72 h 各组福寿螺的死亡率。福寿螺死亡标准:厝甲打开,螺肉翻出,且触碰后螺肉不收缩;或螺体漂浮,厝甲紧闭,用枪头轻触即可使螺肉内陷(麻程军等, 2021)。计算公式如下:

$$\text{死亡率}/\% = \text{死亡螺数}/\text{供试总螺数} \times 100$$

$$\text{校正死亡率}/\% = (\text{处理组死亡率} - \text{对照组死亡率}) / (1 - \text{对照组死亡率}) \times 100$$

1.3.2 皂荚乙醇提取物对福寿螺成螺的毒杀活性

塑料培养箱中开展皂荚提取物对福寿螺成螺毒杀活性研究,安排空白组(纯水)、110、120、130、140 以及 150 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 皂荚乙醇提取物 6 个处理组,各组设置 3 个平行对照。培养缸内药液深度 15 cm,每个培养缸内 25 只福寿螺成螺(螺高>15 mm)。试验方法同 1.3.1。

1.3.3 皂荚乙醇提取物对福寿螺成螺的田间防治效果

2021 年 7 月 10 日于湖北省荆州市荆州区的水稻田间进行大田试验(施药当日阴,当天平均温度为 30.5 $^{\circ}\text{C}$,无灾害性天气,种植水稻为宁香优 2 号,土壤为有机质含量 1.5%左右、 $\text{pH} = 7.21$ 的壤土)。试验安排空白组、处理组。处理组安排 20、40 $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ 2 个用药量。每个用药量安排 3 个 4 m^2 的小区,小区内保水 5 cm 深,小区间筑田埂分隔。空白对照区用塑料薄膜分隔,小区四周及上部用 20 目的纱网围住,各处理组小区随机安排。施药前 1 d,从水沟及田里采集活螺,预养 24 h。施药前 2 h 每个小区放入 40 只大小一致的成螺。放螺后 2 h,待田水基本澄清后,按试验设计剂量均匀施药。施药后保持 2 d 不灌水、7 d 内不排水。试验小区在试验前未使用其他任何除草剂、杀虫剂等农药。施药后 2、7 d 在小区外分别检查一次小区内的活、死螺数,并检查产卵块数,并统计受损秧苗数(分蘖被咬断视为受损)。

$$\text{防治效果}/\% = [1 - (\text{处理区药后活螺数} \times \text{对照区药前活螺数}) / (\text{处理区药前活螺数} \times \text{对照区药后活螺数})] \times 100$$

$$\text{卵块减少率}/\% = [(\text{空白对照区卵块数} - \text{药剂处理区卵块数}) / \text{空白对照区卵块数}] \times 100$$

$$\text{秧苗损失率}/\% = [(\text{施药前总苗数} - \text{施药后活苗数}) / \text{施药前总秧苗数}] \times 100$$

2 结果与分析

2.1 皂荚提取物对福寿螺幼螺的毒杀活性

由表 1 可知,皂荚乙醇提取物对福寿螺幼螺有

显著的毒杀活性。当皂荚乙醇提取物浓度小于 60 mg · L⁻¹时,幼螺活动、进食正常;而皂荚提取物浓度大于等于 60 mg · L⁻¹,幼螺活动、进食均减少;浓度达到 100 mg · L⁻¹时,幼螺停止进食和活动。

表 1 皂荚提取物对福寿螺幼螺的毒杀活性
Table 1 Toxic activity of *G. sinensis* extract on young *P. canaliculata*

皂荚浓度 Concentration of <i>G. sinensis</i> /(mg · L ⁻¹)	24 h 死亡率 Mortality after 24 h/%	48 h 死亡率 Mortality after 48 h/%	72 h 死亡率 Mortality after 72 h/%
100	20.00±36.64	60.00±26.46a	96.67±5.77a
80	20.00±17.32	40.00±26.46b	90.00±17.32a
60	0.00±0.00	13.33±11.55c	63.33±5.77b
40	0.00±0.00	6.67±5.77c	40.00±0.00b
20	0.00±0.00	3.33±5.77c	20.00±0.00c
CK	0.00±0.00	0.00±0.00	3.33±5.77
Pearson 卡方 Pearson's chi-squared	85.714	178.279	267.811
df	5	5	5
回归方程 Linear regression equation	-	y = -0.9129 + 2.9261x	y = 3.9284x - 1.3172
R	-	0.9285	0.9630
致死中浓度 LC ₅₀ /(mg · L ⁻¹)	-	104.90	40.56
95% 置信区间 95% confidence interval	-	87.68 ~ 125.49	37.23 ~ 44.18

a、b、c 表示同一时间段内不同浓度皂荚提取物对幼螺杀螺活性的显著性差异 (P<0.05)。

a, b, and c in the table indicate the significant difference in the molluscicidal activity of different concentrations of *G. sinensis* extracts on young *P. canaliculata* within the same time period (P<0.05).

2.2 皂荚提取物对福寿螺成螺的毒杀活性

由表 2 可知,皂荚提取物对福寿螺成螺有显著的毒杀活性。当皂荚提取物浓度小于 130 mg · L⁻¹

时,成螺活动、进食正常;而皂荚提取物浓度大于等于 130 mg · L⁻¹,成螺活动和进食均减少;浓度达到 150 mg · L⁻¹时,成螺停止进食和活动。

表 2 皂荚提取物对福寿螺成螺的毒杀活性
Table 2 Poisonous activity of *G. sinensis* extract on *P. canaliculata*

皂荚浓度 Concentration of <i>G. sinensis</i> /(mg · L ⁻¹)	24 h 死亡率 Mortality after 24 h/%	48 h 死亡率 Mortality after 48 h/%	72 h 死亡率 Mortality after 72 h/%
150	27.93±6.81	76.83±1.79a	92.67±7.15a
140	15.56±1.92	61.67±12.58a	87.22±4.19a
130	10.26±11.75	55.13±5.88b	81.41±9.49a
120	10.26±4.44	41.19±17.63b	64.96±16.93b
110	10.47±11.69	21.15±19.52c	51.28±16.01b
CK	0.00±0.00	0.00±0.00	2.78±4.81
Pearson 卡方 Pearson's chi-squared	305.682	157.377	238.88
df	5	5	5
回归方程 Linear regression equation	-	y = 10.7038x - 17.5725	y = 10.7375x - 16.9123
R	-	0.9881	0.9948
致死中浓度 LC ₅₀ /(mg · L ⁻¹)	-	128.48	109.83
95% 置信区间 95% confidence interval	-	125.33 ~ 131.70	104.64 ~ 115.29

a、b、c 表示同一时间不同浓度皂角提取物对成螺杀螺活性的显著性差异 (P<0.05)

a, b, and c in the table indicate the significant difference in the molluscicidal activity of different concentrations of *G. sinensis* extracts on *P. canaliculata* within the same time period (P<0.05).

2.3 皂荚提取物对福寿螺成螺的田间防治效果

由图 1 可知,施用皂荚提取物对福寿螺有显著的田间防治效果,而且施用皂荚提取物对秧苗有显著的保护作用,施用 20 和 40 g · m⁻²皂荚提取物处

理 2、7 d 后的秧苗损失率明显下降(图 2);与空白对照相比,20 和 40 g · m⁻²皂荚提取物处理 2、7 d 后可有效减少福寿螺产卵(图 3)。

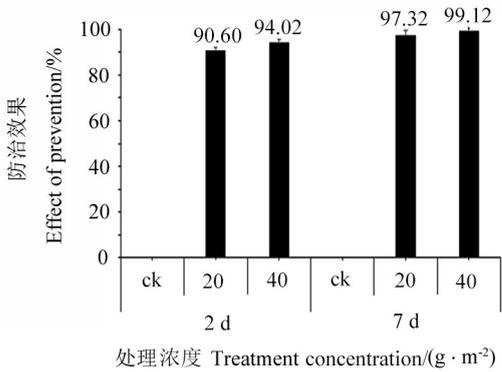


图 1 皂荚乙醇提取物对福寿螺的田间防治效果
Fig.1 The control effect of *G. sinensis* ethanol extract on *P. canaliculata*

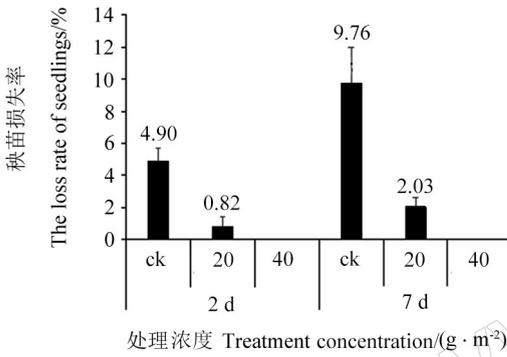


图 2 处理后的秧苗损失率
Fig.2 The result of seedling loss rate after treatment

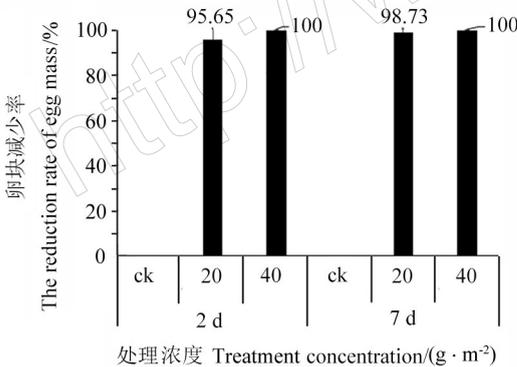


图 3 处理后的卵块减少率
Fig.3 The reduction rate of egg mass after treatment

3 讨论与结论

生物活性测试和大田试验结果表明,皂荚乙醇提取物具有显著的杀螺活性,对幼螺和成螺 72 h 的半数致死量分别为 $40.56, 109.83 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;田间试验表明,皂荚提取物对福寿螺有较好的防效,施用 $40 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 的皂荚提取物处理 7 d 后秧苗损失率为 0,卵块减少率为 100.00%,防治效果为 $(99.12 \pm 1.26)\%$;其对福寿螺的毒杀活性显著高于蓖麻 *Ricinus communis* L. 籽提取液,蓖麻籽提取液对福寿螺

的 LC_{50} 为 $3.82 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (王婵娟等,2021)。而 $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的博落回 *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br.、夹竹桃 *Nerium oleander* L.、魔芋 *Amorphophallus* Blume、乌药 *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm 和美洲商陆 *Phytolacca americana* L. 乙醇提取物对幼螺的相对毒杀率分别为 83.15%、55.06%、46.07%、37.08% 和 34.83%,对成螺的相对毒杀率分别为 35.56%、28.89%、26.67%、23.33% 和 17.78% (闫小红等,2011),此 5 种植物乙醇提取物的杀螺活性显著低于皂荚提取物。 $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的血水草 *Eomecon chionantha* Hance 乙醇提取物对福寿螺幼螺的相对毒杀率为 86.67%,对成螺的相对毒杀率为 36.67% (周兵等,2011);此外,茶皂素对福寿螺对成螺、中螺和幼螺的 LC_{50} 值(有效成分)分别为 2.61、2.39 和 2.68 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (麻程军等,2021),显著高于皂荚提取物的杀螺活性,可能是因为本研究中皂荚提取物未经纯化,致使皂荚提取物中的有效成分过低,后期将进一步研究皂荚果荚的有效成分提取方法,并开发出合适的剂型进行大田试验,充分挖掘其杀螺活性。

综上所述,皂荚提取物具有显著毒杀福寿螺的活性,极具开发为植物源杀螺剂的潜力,有待进一步开发与利用。

参考文献

环保总局,中科院,2003. 关于发布中国第一批外来入侵物种名单的通知. (2003-01-10) [2021-08-12]. http://www.gov.cn/gongbao/content/2003/content_62285.htm.
黄达娜,黄亚兰,阳帆,房师松,吴春利,武伟华,张晓敏,彭博,王昕,唐屹君,张仁利,2017. 输入性福寿螺传播广州管圆线虫的潜能研究. *中国热带医学*, 17(9): 871-875.
李建军,尚星晨,马静潇,连笑雅,张光田,2018. 大皂角不同形态特征及总皂苷、刺囊酸的比较分析. *中药材*, 41(3): 551-555.
麻程军,王瑞,刘彬,黄斌,侯有明,汤宝珍,2021. 茶皂素杀螺活性及对 3 种水生生物的安全性. *农药学报*, 23(1): 139-145.
王婵娟,徐成龙,马俊,那定勋,张饮江,2021. 蓖麻籽提取液对福寿螺毒杀效果及作用机制. *水生生物学报*, 45(2): 284-291.
叶建人,林贤文,祝增荣,2015. 福寿螺对水稻的为害及其产量损失研究. *农学学报*, 5(3): 29-35.
闫小红,周兵,邹有,蒋平,许冬梅,2016. 16 种植物提取物对福寿螺杀螺效果的研究. *广东农业科学*, 38(4): 81-84.

- 俞晓平,和田节,李中方,吕仲贤,孙乐平,朱亚红,陈建明,郑许松,徐红星,2001.稻田福寿螺的发生和治理.浙江农业学报(5):9-14.
- 周兵,邹有,闫小红,刘名信,钟娟,蒋平,2011.血水草提取物对福寿螺的杀螺效果.湖北农业科学,50(7):1390-1393.
- 张海涛,罗渡,牟希东,徐猛,韦慧,罗建仁,章家恩,胡隐昌,2016.应用多个生态位模型预测福寿螺在中国的潜在适生区.应用生态学报,27(4):1277-1284.
- 曾婷婷,梁刚,李波,2020.福寿螺绿色防控技术与应用方法.四川农业科技(4):40-41.
- BAPTISTA D F, VASCONCELLOS M C, LOPES F E, SILVA I P, SCHALL V, 1994. Perspectives of using *Euphorbia splendens* as a molluscicide in schistosomiasis control programs. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 25(3): 419-424.
- BRITO F, JOSHI R C, 2016. The golden apple snail *pomacea canaliculata*: a review on invasion, dispersion and control. *Outlooks on Pest Management*, 27(4): 57-63.
- CAI Y, ZHAN L, ZHANG C Z, WANG X D, LU D B, CHENG L B, XU H L, WANG X S, 2018. Effect of *Gleditsia sinensis* extract on miRNA21 and gene in liver cancer rat. *Chinese Journal of Hepatology*, 26(2): 142-144.
- CAI Y, ZHANG C Z, ZHAN L, CHENG L B, LU D B, WANG X D, XU H L, WANG S X, WU D, RUAN L G, 2019. Anticancer effects of *Gleditsia sinensis* extract in rats transplanted with hepatocellular carcinoma cells. *Oncology Research*, 27(8): 889-899.
- HA H H, PARK S Y, KO W S, KIM Y H, 2008. *Gleditsia sinensis* thorns inhibit the production of NO through NF-kappa B suppression in LPS-stimulated macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, 118(3): 429-434.
- JOSHI R C, MARTIN R S, SAEZ N C, ALARCON J, SAINZ J A, ANTOLIN M M, MARTIN A R, SEBASTIAN L S, 2008. Efficacy of quinoa (*Chenopodium quinoa*) saponins against golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) in the Philippines under laboratory conditions. *Crop Protection*, 27(3/4/5): 553-557.
- LI W H, ZHANG X M, TIAN R R, ZHENG Y T, ZHAO W M, QIU M, 2007. A new anti-HIV lupane acid from *Gleditsia sinensis* Lam. *Journal of Asian Natural Products Research*, 9(6): 551-555.
- SEUFFERT M E, MARTIN P R, 2010. Dependence on aerial respiration and its influence on microdistribution in the invasive freshwater snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae). *Biological Invasions*, 12(6): 1695-1708.
- SHIN S S, PARK Y J, HWANG B, PARK S L, HAN S W, PARK S S, CHOI Y H, KIM W J, MOON S K, 2019. Triacanthine exerts antitumor effects on bladder cancer *in vitro* and *in vivo*. *Phytomedicine*, 64. DOI: 10.1016/j.phymed.2019.153069.
- YANG Q Q, LIU S W, HE C, COWIE R H, YU X P, HAYES K A, 2018. Invisible apple snail invasions: importance of continued vigilance and rigorous taxonomic assessments. *Pest Management Science*, 75(5): 1277-1286.
- YI J M, PARK J S, OH S M, LEE J, KIM J O, DAL S, BANG O S, KIM N S, 2012. Ethanol extract of *Gleditsia sinensis* thorn suppresses angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12: 243.
- YI J M, KIM J H, PARK J S, LEE J, LEE Y J, HONG J T, BANG, OK S K, NO S, 2015. *In vivo* anti-tumor effects of the ethanol extract of *Gleditsia sinensis* thorns and its active constituent, Cytochalasin H. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 38(6): 909-912.
- YU J Q, LI G, MU Y, ZHOU H L, WANG X, YANG P, 2019. Anti-breast cancer triterpenoid saponins from the thorns of *Gleditsia sinensis*. *Natural Product Research*, 33(16): 2308-2313.
- YU J Q, XIAN Y X, GENG Y L, WANG D J, ZHOU H L, WANG X, 2015. Anti-liver cancer constituents from the thorns of *Gleditsia sinensis*. *Phytochemistry Letters*. 13: 343-347.
- ZHANG Y B, LAM K H, CHEN L F, WAN H W, GUO C, LEE K F, YIP C W, LIU K H, LEUNG P H, CHAN H Y, SHI Y G, ZHAO J, LAO L X, LI Y L, ZHANG Y B, MENG W, 2020. Chemical constituents from the thorns of *Gleditsia sinensis* and their cytotoxic activities. *Journal of Asian Natural Products Research*, 22(12): 1121-1129.

(责任编辑:郭莹)