

苏奕人,王友志,陈慧健,等. 复配四聚乙醛对福寿螺的杀灭效果[J]. 江苏农业科学,2020,48(2):113-117.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.02.020

复配四聚乙醛对福寿螺的杀灭效果

苏奕人¹,王友志²,陈慧健²,高玉忠²,范飞¹,陈让让¹,杨绪勤¹

(1. 江苏师范大学生命科学学院/江苏省药食植物生物技术国家重点实验室培育点,江苏徐州 221116;

2. 徐州诺特化工有限公司,江苏徐州 221116)

摘要:传统化学农药的大量使用会污染土壤,破坏生态环境,危害人体健康。为了降低 6% 四聚乙醛化学农药的含量,用四聚乙醛和茶皂素粗品复配成生物源农药,研究其杀螺效果。52℃ 热击试验表明,茶皂素的性质较为稳定,通过绘制茶皂素标准曲线,测出茶皂素粗品的含量为 80%。将 5% 四聚乙醛和 1% 茶皂素按 5:1 的质量比进行复配,同理依次按 5:2、5:3、5:4 的质量比进行复配,将 4% 四聚乙醛和 1% 茶皂素按质量比 4:1、4:2、4:3、4:4 复配后进行杀螺试验。大量试验结果表明,复配比例为 5:2、4:3 时,杀螺效果不低于 6% 四聚乙醛制剂(对照组)的杀螺效果,研究结果为降低生态环境污染及生产杀螺剂复配生物源农药提供了研究基础。

关键词:四聚乙醛;茶皂素;复配;福寿螺;杀灭

中图分类号:TQ459 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)02-0113-05

在我国,大量使用化学农药已有 30 多年的历史。我国农产品的农药残留量严重超过了国家标准,部分地区超标比例为 80%^[1]。据不完全统计,每年因农药残留量超标造成食物中毒的人口约有 20 万~40 万人^[2]。过度摄入含有农药残留的食物,对人民群众的健康安全造成了极大的危害^[3-4]。为了改变当前这一现状,减少化学农药的使用,生物源农药的研发正日益受到人们的关注和重视。田本志等利用 2% 苦参碱水剂配制生物源农药,研究其对十字花科蔬菜害虫的防治效果,结果显示,2% 苦参碱水剂使用剂量为 15~20 g/hm² 时的防治效果较好^[5]。问荣荣等利用生物源农药鱼藤酮验证了其其对舞毒蛾幼虫的杀虫活性,结果表明,生物源农药鱼藤酮对舞毒蛾幼虫具有低毒、高毒杀作用^[6]。

福寿螺(*Pomacea canaliculata*),又名金宝螺,被我国列为危害最为严重的首批外来入侵物种^[7],1

只雌螺经 1 年 2 代共可繁殖幼螺 32.5 万余只,繁殖力极强,潜在危害巨大。据统计,福寿螺等软体动物对水稻、蔬菜、慈菇、紫云英等的危害率一般为 4%~5%,高的可达 10%~15%,水稻受害株率一般为 7%~15%,最高的达 64%,已成为严重危害我国水稻种植区的水生软体动物^[8]。福寿螺在我国很多地区被大量发现。利用福寿螺的天敌如鸭子、乌龟、鲤鱼^[9]、蚂蚁^[10]去防治福寿螺,如果使用不合理,会导致生态不平衡,进而引起生态危机。当前防止福寿螺暴发的途径有很多,例如生物、物理、药物防治,但主要为化学农药防治^[11-14]。其中防止福寿螺暴发的杀螺剂的主要成分是四聚乙醛,为白色针状结晶,熔点高,温度高,难溶于水,微溶于有机溶剂,可作为杀螺剂^[15]去杀灭福寿螺。经过调查分析,目前市场上流通的化学农药杀螺剂为 6% 四聚乙醛制剂,虽然其杀灭效果显著,然而长期使用会造成严重环境污染和生态破坏,极大危害人类健康。茶皂素是一种从茶饼中发现的天然植物提取物,具有溶血作用^[16]、鱼毒作用^[17]、杀螺作用^[18],可以作为化学农药的助剂,起到高效杀灭福寿螺的作用。

本研究将四聚乙醛和茶皂素复配成生物源农药,研究其杀螺效果,通过大量试验寻求四聚乙醛和茶皂素复配农药的最适比例,以期得到既能降低四聚乙醛含量、减小环境污染、保护人类健康,又能达到更好的杀螺效果的生物源农药,为将来新型杀

收稿日期:2018-11-12

基金项目:国家自然科学基金(编号:31672148);徐州市科技创新项目(编号:KC16SS093、KC16NG070);江苏省研究生科研创新计划(编号:SJKY19_2046);江苏省科技计划(苏北科技专项)(编号:XZ-SZ201839)。

作者简介:苏奕人(1996—),男,江苏徐州人,硕士,主要从事植物学研究。E-mail:suyiren1996@163.com。

通信作者:杨绪勤,博士,硕士生导师,主要从事植物学研究。Tel:(0516)83403606;E-mail:xuqin800715@163.com。

螺生物源农药的产业化提供理论和科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

所用福寿螺由徐州诺特化工有限公司提供,选择具有很强生命力体态、5~7 旋的福寿螺进行杀灭试验,每轮试验设800~1 000 只备用,设3 次重复试验。茶皂素标准品由中科质检生物技术有限公司提供;茶皂素粗品、6% 四聚乙醛制剂(市场流通杀螺剂)和 98% 四聚乙醛原药均由徐州诺特化工有限公司提供。其他试剂有甲醇(分析纯,生工)、冰醋酸(生工)、8% 香草醛(阿拉丁)、77% 浓硫酸(生工)。

电子天平(SartoriusBSA224S,赛多利斯科学仪器有限公司);5、100 mL 容量瓶;移液管;移液枪;水浴锅;紫外-可见分光光度计(Evolution 300,赛默飞世尔科技)。

1.2 试验方法

1.2.1 茶皂素样品稳定性的验证 称取 5 mg 茶皂素样品,用适量甲醇溶解,加入 10 mL 容量瓶中,并定容至 10 mL 刻度处。量取 5 mL 溶液,在常温下加入含有 8% 香草醛的冰醋酸溶液,在冰水浴中加入 4 mL 77% 浓硫酸,摇匀后密塞,于 60 ℃ 水浴加热 15 min,然后用冰水冷却以终止反应。重复测定 3

次吸光度(波长为 551 nm)。再取剩下的 5 mL 溶液,在 52 ℃(模拟田间最高温度)下热击 4 h(1 d 中的温度最高一般出现在 12:00—15:00),随后的方法同上,重复测定 3 次吸光度(波长为 551 nm),用 Excel 对原始数据进行初步整理,最后的数值为平均值±标准差。

1.2.2 绘制茶皂素标准曲线及测定茶皂素粗品中的茶皂素含量 称取 5 mg 茶皂素标准品,用适量甲醇溶解,置于 10 mL 容量瓶中并定容,使标准品浓度为 0.5 mg/mL。精确吸取 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 标准品溶液,分别置于 5 个试管中,用适量甲醇溶液分别将体积补充至 0.5 mL。分别加入 0.5 mL 香草醛的冰醋酸溶液,在冰水浴过程中加入浓度为 77% 的浓硫酸各 4 mL,摇匀后密塞,于 60 ℃ 水浴 15 min,最后用冰水终止反应。以甲醇为对照,以茶皂素的浓度为横坐标,在 551 nm(茶皂素标准品的最大吸收波长)处以测定 3 次的吸光度的平均值为纵坐标来绘制茶皂素标准曲线,根据标准曲线公式测定粗品茶皂素含量。

1.2.3 四聚乙醛与茶皂素样品的复配试验 (1) 5% 四聚乙醛+80% 粗品茶皂素复配制剂配方。确定 6% 四聚乙醛制剂的福寿螺最低致死量后,进行复配试验。将四聚乙醛和茶皂素按质量比例制成可湿性制剂,复配配方见表 1。

表 1 5% 复配四聚乙醛与不同比例茶皂素的含量

| 组别 | 质量分数(%) | | | | | 总计 |
|----|---------|-----|-----|-----|----|-----|
| | 四聚乙醛 | 茶皂素 | 石膏粉 | 引诱剂 | 面粉 | |
| A | 5 | 1 | 8 | 1 | 85 | 100 |
| B | 5 | 2 | 8 | 1 | 84 | 100 |
| C | 5 | 3 | 8 | 1 | 83 | 100 |
| D | 5 | 4 | 8 | 1 | 82 | 100 |

(2)4% 四聚乙醛+80% 粗品茶皂素复配制剂配方。确定 6% 四聚乙醛制剂的福寿螺最低致死量

后,进行复配试验。将四聚乙醛和茶皂素按比例制备成可湿性制剂,复配配方见表 2。

表 2 4% 复配四聚乙醛与不同比例茶皂素的质量分数

| 组别 | 质量分数(%) | | | | | 总计 |
|----|---------|-----|-----|-----|----|-----|
| | 四聚乙醛 | 茶皂素 | 石膏粉 | 引诱剂 | 面粉 | |
| A | 4 | 1 | 8 | 1 | 86 | 100 |
| B | 4 | 2 | 8 | 1 | 85 | 100 |
| C | 4 | 3 | 8 | 1 | 84 | 100 |
| D | 4 | 4 | 8 | 1 | 83 | 100 |

(3)分组。准备试验用具——透明塑料盆,分为 8 组,依次为 0、5、10、15、20、25、30、35 mg/L 5% 四聚乙醛复配可湿性制剂;0、5、10、15、20、25、30、35 mg/L 4% 四聚乙醛复配可湿性制剂;以相同含量的 6% 四聚乙醛为对照组,以 0 mg/L 为空白组。每

组倒入 2 L 脱氯水并加入 12 只福寿螺,同时加空心菜、白菜等蔬菜作为福寿螺的食物,每隔 2 d 换 1 次食物,设 3 次试验重复。

(4)施药。用天平准确称取 5% 四聚乙醛与 1% 茶皂素复配可湿性制剂,分为 A 组(5:1)、B 组

(5 : 2)、C 组(5 : 3)、D 组(5 : 4),4% 四聚乙醛复配可湿性制剂分为 A 组(4 : 1)、B 组(4 : 2)、C 组(4 : 3)、D 组(4 : 4)对应编号施加药液,另取 1 组,以 6% 四聚乙醛为对照组。在更换药物种类和浓度时,要用去离子水反复清洗,本研究能够有效避免试验因为药物残留等原因而造成的交叉污染或误差。

(5)观察与纪录。施药后持续观察 1 周时间。试验观察时首先挑拣出已明显开口死亡的福寿螺个体,对于始终紧闭螺壳的福寿螺个体,可选择洗去表面药物后放置于清水中,数日后观察是否死亡或者选择用敲击法来确定福寿螺的死活。观察后及时记录死亡螺数,录入表格。

由于福寿螺生命力顽强,对环境的耐受力极高,因此为了防止试验结束后福寿螺对环境造成严重危害,需要对其尸体进行特殊处理,在指定位置进行集中掩埋。对一些试验剩余的福寿螺进行人工粉碎处理,之后用杀螺剂均匀覆盖粉碎后的福寿螺个体,使其彻底死亡后,再进行掩埋。

2 结果与分析

2.1 热击试验的结果分析

如表 3 所示,在常温与 52 ℃热击 4 h 后的 D 值变化不大,表明茶皂素在加热条件下不易降解,稳定性较高。

表 3 茶皂素在不同温度下热击的 $D_{551\text{ nm}}$

| 温度 | $D_{551\text{ nm}}$ | |
|------------|---------------------|---------------|
| | 80% 茶皂素 | 标准品 |
| 常温 | 0.110 ± 0.001 | 0.115 ± 0.001 |
| 52 ℃热击 4 h | 0.126 ± 0.003 | 0.129 ± 0.001 |

2.2 标准曲线的绘制

表 4 中的 $D_{551\text{ nm}}$ 均为测定 3 次最后计算得到的平均值。根据标准曲线得到标准回归方程为 $y = 12.57x + 0.009\ 9$, $r^2 = 0.997\ 1$ 。采用 F 检验法对此回归方程进行检验,茶皂素的质量浓度与吸光度呈现高度的正相关(图 1),根据标准曲线测得粗品茶皂素含量为 80%。

表 4 不同质量浓度茶皂素在 551 nm 波长处的吸光度

| 标准品质量浓度 (mg/mL) | $D_{551\text{ nm}}$ |
|--------------------|---------------------|
| 0.01 | 0.138 |
| 0.02 | 0.268 |
| 0.03 | 0.379 |
| 0.04 | 0.499 |
| 0.05 | 0.651 |

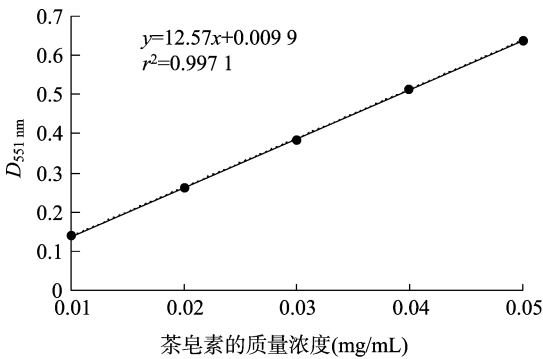


图1 茶皂素的标准曲线

2.3 福寿螺杀灭效果分析

进行复配试验后,施药后 12 h 开始出现死亡的福寿螺个体,第 7 天药效趋向于稳定。设 3 次重复,用 Excel 对原始数据进行初步整理,进行差异显著性分析,最后的数值为平均值 + 标准差,然后绘制柱形图。由于试验所在地早晚气温变化幅度大,在重复试验时发现,早晚的低温会影响福寿螺的活性,使施药的防治效果下降。由此可见,温差与福寿螺的杀灭效果具有相关性^[19]。

图 2 显示,空白组福寿螺没有死亡;复配的 A、B、C、D 组对福寿螺的杀灭效果较为明显的用量区间为 20 ~ 35 mg/L,表明 5% 四聚乙醛制剂从浓度为 20 mg/L 开始杀灭效果加强,7 d 后都具有良好的致死效果,B、C、D 组福寿螺的死亡率均达到 100%。本研究结果显示,四聚乙醛和茶皂素复配的最适比例为 5 : 2(B 组),可在较短的时间内达到杀伤福寿螺的效果,与 6% 四聚乙醛制剂(对照组)的杀灭效果类似。

图 3 显示,空白组福寿螺没有死亡;复配的 A、B、C、D 组对福寿螺的杀灭效果较为明显的用量区间为 25 ~ 35 mg/L,显示 4% 四聚乙醛制剂从浓度为 25 mg/L 开始杀灭效果加强,7 d 后都具有良好的致死效果,C、D 组福寿螺的死亡率均达到 100%。本研究结果显示,四聚乙醛和茶皂素复配的最适比例为 4 : 3(C 组),可在较短时间内达到杀伤福寿螺的效果,与 6% 四聚乙醛制剂(对照组)的杀灭效果类似。本试验可以降低四聚乙醛对环境的毒害作用,同时保证对福寿螺的灭杀效果,使用安全便捷,并且生产该生物农药的原料易获取,经过估算,生产成本可低于常见的化学药剂。本研究结果为降低生态环境污染及未来生产杀螺剂复配生物农药提供了研究基础。

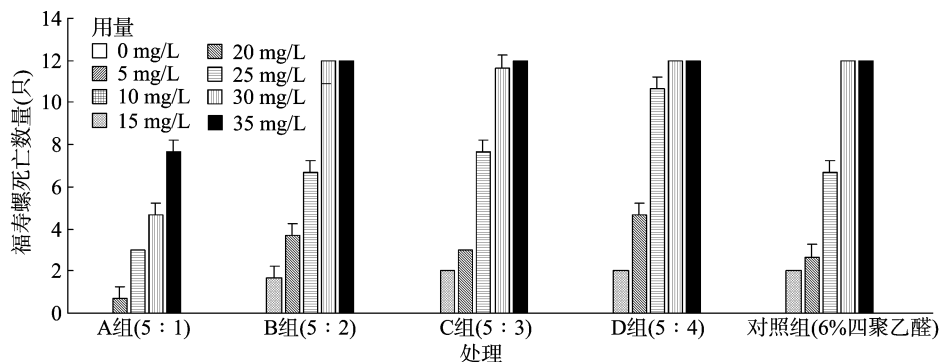


图2 5%复配四聚乙醛制剂对福寿螺的杀灭效果

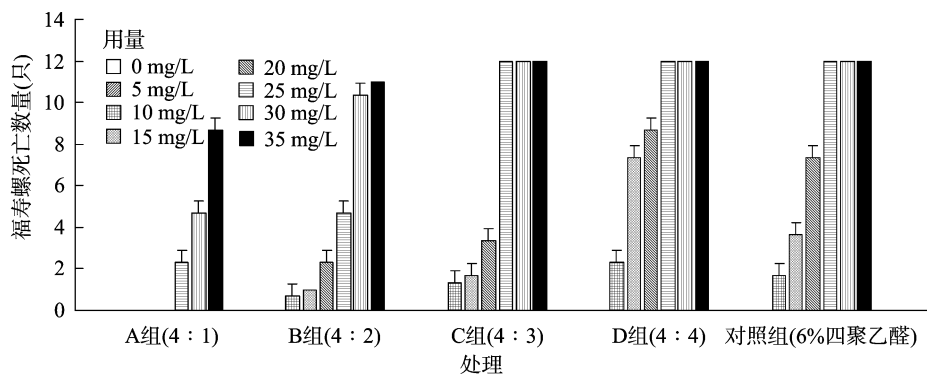


图3 4%复配四聚乙醛制剂对福寿螺的杀灭效果

3 讨论

国家“十三五”科学和技术发展规划将生物产业作为新兴产业的一部分,把农业生物药物与生态农业作为优先发展的主题,因此,国家明确提出“双减”计划——减化肥、减农药。当前的植物源农药研究十分火热,对于保护生态环境而言,它将会是一个很有前景的选择。目前,全世界科学家已经找到了1 000多种植物作为杀螺试剂的成分,例如含羞草科、云实科、大戟科等^[20]。徐武兵等研究认为,白千层、扶桑对福寿螺有较强的诱导作用^[21]。曾坤玉研究认为,五爪金龙、马缨丹、螳螂菊等植物的提取物可以有效地杀死福寿螺^[22]。Joshi等研究指出,昆阿诺藜植株中的昆阿诺藜皂苷同样对福寿螺有较强的杀灭作用^[23]。因此,众多研究的最终目的是为了降低传统农药的化学含量,增加含有杀螺作用的植物成分^[24]。使用复配的方式是最行之有效的途径,刘芳等研究认为,半夏和夹竹桃的复配杀螺剂效果比单一杀螺剂的效果要好^[25]。朱亚红从薯蓣、蒺藜中提取皂类物质复配成植物型杀螺剂,与本试验相比较两者都具有化学农药残留少、生产成

本低的优点^[26],但本研究突出的特点在于茶皂素粗品原料易于获取、试验便于操作。当前,很多科学家在尝试获取更优的复配比例,既可以实现杀螺效果,又可以保护环境^[27]。比如何军在使用不同浓度的茶皂素复配三苯基乙酸锡(百螺敌)WP(可湿性粉剂)时取得了较好的复配农药杀螺效果^[28]。本试验使用不同浓度的茶皂素复配四聚乙醛,借助于对福寿螺杀灭效果的研究,结合复配生物农药生产原料成本、药效时间长短、土壤化学残留和环境污染程度等因素,最终选定四聚乙醛和茶皂素复配质量比5:2、4:3的复配制剂,使其能与当前市场流通的6%四聚乙醛制剂杀螺效果相似。本研究为未来产业化杀螺剂复配生物农药提供了研究基础,同时,笔者将继续研究更低浓度的四聚乙醛与不同浓度的茶皂素复配,以便于深入地进行复配杀螺剂的研究,努力寻找杀螺的机制,做到增强杀螺效果、提高靶向能力,同时降低环境污染。通过茶皂素与四聚乙醛的复配,研制出快捷有效的新一代生物源农药杀螺剂,使其达到1+1>2的作用,实现产业化,这将会有利于生态环境的平衡和无公害农业的发展,更加有助于人类的健康和社会的发展。

参考文献:

- [1] 孙承业. 疏果去农药, 居家有四招[J]. 家庭药师, 2014(4): 76.
- [2] 杨 丽. 浅谈农产品蔬菜中农药残留问题及对策[J]. 农民致富之友, 2018(1): 77.
- [3] Wang L. Determination of pesticide residues in cereals, oils and agricultural products[J]. Modern Food, 2017; 26.
- [4] Siri Wong W, Ong - artborirak P, Nganchamung T, et al. Factors associated with health effects from occupational exposure to pesticide residues among greengrocers in fresh market, Bangkok, Thailand[J]. Human & Ecological Risk Assessment, 2019, 25(3): 1 - 12.
- [5] 田本志, 赵 奇, 胡 兰, 等. 生物农药 2% 苦参碱水剂对菜青虫的防治效果[J]. 世界农药, 2009, 31(6): 34 - 35.
- [6] 问荣荣, 马 玲, 董婉莹, 等. 鱼藤酮对舞毒蛾的毒杀作用[J]. 东北林业大学学报, 2016, 44(9): 103 - 105, 111.
- [7] Luque G M, Bellard C, Bertelsmeier C, et al. The 100th of the world's worst invasive alien species[J]. Biological Invasions, 2014, 16(5): 981 - 985.
- [8] 刘新有, 史正涛, 唐皎艳. 入侵物种的防治与科学利用——以福寿螺为例[J]. 江西农业学报, 2007, 19(3): 95 - 96.
- [9] Ip K K L, Liang Y, Lin L, et al. Biological control of invasive apple snails by two species of carp: effects on non - target species matter [J]. Biological Control, 2014, 71: 16 - 22.
- [10] Yusa Y. Predation on eggs of the apple snail *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) by the fire ant *Solenopsis geminata* [J]. Journal Molluscan Studies, 2001, 67(3): 275 - 279.
- [11] Dong S Z, Zheng G W, Yu X P, et al. Biological control of golden apple snail, *Pomacea canaliculata* by Chinese soft - shelled turtle, *Pelodiscus sinensis* in the wild rice, *Zizania latifolia* field [J]. Scientia Agricola, 2012, 69(2): 142 - 146.
- [12] WHO Expert Committee on the Control of Schistosomiasis, World Health Organization. The control of schistosomiasis. Second report of the WHO Expert Committee[J]. World Health Organ Tech Rep Ser, 1993, 830(6): 1 - 86.
- [13] Madsen H. Biological methods for the control of freshwater snails [J]. Parasitology Today, 1990, 6(7): 237 - 241.
- [14] 李 洁, 钱万红, 黄铁听, 等. 植物灭螺药物研究进展[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2002, 14(1): 67 - 69.
- [15] Barker G M, Pottinger R P, Lloyd J M, et al. A novel bait formulation for slug and snail control [C]//Forty Fourth New Zealand Weed & Pest Control Conference. 1991.
- [16] 刘 洪, 胡 蝶. 茶皂素的结构和生物活性研究进展[J]. 湖南农业科学, 2017(5): 119 - 122.
- [17] 林国荣. 油茶饼中茶皂素的分离及生物活性的研究[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(1): 76 - 79, 122.
- [18] 贤振华, 贾道田, 韩微, 等. 茶皂素对不同发育阶段福寿螺生长的影响[J]. 南方农业学报, 2012, 43(8): 1129 - 1134.
- [19] 刘艳斌, 韩微, 贤振华. 温度对福寿螺生长发育及摄食的影响 [J]. 南方农业学报, 2011, 42(8): 901 - 905.
- [20] 王彬, 赵红梅, 卢昊. 植物狼毒大戟对钉螺及血吸虫毛蚴的影响[J]. 安徽农学通报, 2010, 16(11): 46 - 48.
- [21] 徐武兵, 钟秋华, 李林峰, 等. 16 种植物对福寿螺的趋避效果研究[J]. 广东农业科学, 2010(11): 149 - 152.
- [22] 曾坤玉. 与福寿螺同源地入侵植物稻田防螺潜力评价[D]. 广州: 华南农业大学, 2008.
- [23] Joshi R C, Martín R S, Saez - Navarrete C, et al. Efficacy of quinoa (*Chenopodium quinoa*) saponins against golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) in the Philippines under laboratory conditions[J]. Crop Protection, 2008, 27(3/4/5): 553 - 557.
- [24] Rao I G, Singh D K. Combinations of *Azadirachta indica* and *Cedrus deodara* oil with piperonyl butoxide, MGK - 264 and *Embelia ribes* against *Lymnaea acuminata* [J]. Chemosphere, 2001, 44(8): 1691 - 1695.
- [25] 刘 芳, 吴三林, 缪 静, 等. 四种植物水浸提液对福寿螺的毒杀效果[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(19): 4734 - 4736.
- [26] 朱亚红. 一种植物性杀螺剂及其制备方法: CN 1994081 A [P]. 2007.
- [27] 钱久李, 秦俊豪, 黎华寿. 福寿螺植物源杀螺剂绿色农药的研究进展[J]. 农药, 2016, 55(10): 707 - 714.
- [28] 何 军. 茶麸对福寿螺的防治作用[J]. 吉林农业, 2014(8): 15, 14.