

不同植物来源的亚致死性精油对不同生化参数的影响

Farindra Tiwari

圣雄甘地 PG 学院北方邦戈勒克布尔 印度

【摘要】有效的蜗牛控制是降低地方性疾病片形吸虫病发病率的重要手段之一。精油及其成分作为农药的安全替代品，用于控制包括腹足类在内的各种害虫，正日益受到人们的关注。本研究已证实部分精油可有效杀灭媒介蜗牛椎实螺。尖叶晚香子兰。本研究的主要目的是评估晚香子兰精油的杀软体动物活性。晚香玉球茎，葱属 sativum 球茎及其活性杀软体动物成分 hecogenin 和大蒜素对抗蜗牛 *Lymnaea acuminata*。不同植物源杀螺剂亚致死处理（24 小时 LC₅₀ 的 40% 和 80%）对椎实螺（*Lymnaea*）神经组织中不同酶活性的影响对 *L. acuminata* 进行了研究。从目前的结果明显可以看出，*P. tuberosa* 和 *A. sativum* 球茎精油是强效的植物源杀软体动物剂。本研究有助于降低片形吸虫病的发病率。这些精油可能为控制印度北方邦东部牛群的片形吸虫病提供一种替代工具。蜗牛暴露于亚致死浓度的精油中，与活性杀软体动物成分相比，*L. acuminata* 神经组织中的乙酰胆碱酯酶 (AChE)、酸性/碱性磷酸酶 (ACP/ALP)、乳酸脱氢酶 (LDH) 和 Na⁺ K⁺ ATPase 活性受到显著抑制。植物源性杀软体动物剂的精油和活性化合物均具有高毒性，与粗品相比，对 *L. acuminata* 的不同生化参数均表现出显著的抑制作用。

【关键词】精油；杀软体动物剂；晚香玉；紫花地丁；尖叶榕

【收稿日期】2025 年 4 月 13 日

【出刊日期】2025 年 6 月 13 日

【DOI】10.12208/j.ijbor.20250001

Effect of sub-lethal exposure of essential oils of various plant origin molluscicides on different biochemical parameters of vector snail *lymnaea acuminata*

Farindra Tiwari

Department of Zoology, Mahatma Gandhi P G College, Gorakhpur, Uttar Pradesh, India.

【Abstract】 The incidence of endemic disease fascioliasis can be reduced by effective snail control which is one of the most important tools. Essential oils and their constituents are gaining increasing interest for use as safe alternatives to pesticides for controlling various pests including gastropods. In the present study, some of the essential oils were demonstrated as potent molluscicides against the vector snail *Lymnaea acuminata*. The main objective of this research is to evaluate the molluscicidal activity of the essential oils of *Polianthes tuberosa* bulb, *Allium sativum* bulb, and their active molluscicidal components hecogenin and allicin against the snail *Lymnaea acuminata*. The effect of sub-lethal treatments (40% and 80% of 24h LC₅₀) of different plant-derived molluscicides on different enzyme activities in the nervous tissue of snail *Lymnaea acuminata* was studied. It is evident from the present results that *P. tuberosa* and *A. sativum* bulb essential oils exhibited as strong molluscicides of plant origin. The present study can help reduce the incidence of fascioliasis. These essential oils may offer an alternative tool for the control of fascioliasis in the cattle population of eastern Uttar Pradesh of India. Snails exposed to sub-lethal concentrations of essential oils of and compared with the active molluscicidal components a significant inhibition in acetylcholinesterase (AChE), acid/alkaline phosphatase (ACP/ALP), lactic dehydrogenase (LDH) and Na⁺ K⁺ ATPase activities in the nervous tissue of *L. acuminata*. Essential oils and active compounds of both the plant origin molluscicides were highly toxic and show significant inhibition in different biochemical parameters to *L. acuminata* compared with their crude forms.

*通讯作者: Farindra Tiwari

注: 本文于 2023 年发表在 Advance in Biological Research 期刊 4 卷 2 期, 为其授权翻译版本。

【Keywords】 Essential oils; Molluscicides; *Polianthes tuberosa*; *Allium sativum*; *Lymnaea acuminata*

1 简介

肝片吸虫病是印度北方邦东部地区重要的牲畜健康问题之一^[1-8]。该病由肝片吸虫传播。肝形目 *F.gigantica* 和通过媒介蜗牛 *Lymnaea* 传播片形吸虫病 (*acuminata*)^[9]。使用杀螺剂控制蜗牛是快速有效控制该病的有效方法之一^[10-15]。降低片形吸虫病发病率的一个显而易见的解决方案是通过消灭媒介蜗牛来切断吸虫的生命周期。研发一种安全有效的杀螺剂始终是一个现实的目标。它必须在低剂量下有效,并将对蜗牛所在区域内其他生物群的不利影响降至最低。

精油是来自天然来源(通常是植物)的挥发性液态芳香化合物。这些芳香物质(精油)本身是在叶片的叶绿体、细胞壁的叶脉层或某些糖苷的水解中形成的。它们可能存在于植物的不同部位,例如叶子(牛至)、种子(杏仁)、花朵(茉莉)、果皮(佛手柑)、浆果(杜松)、根茎(高良姜)、根(当归)、树皮(黄樟)、木材(沉香木)、树脂(乳香)、花瓣(玫瑰)。来自同一植物不同部位的精油可能具有完全不同的香气和特性。例如,天竺葵的花朵和叶子都会产生精油,而这两个部位的精油在成分、香气和其他一些特性上都有所不同。从植物中提取的精油量取决于许多相互关联的因素,包括气候、季节和地理条件、收获期以及提取技术^[16]。植物的精油产量也会受到植物生长阶段的影响。科学家从功能性的角度看待精油。它们被认为是植物界的“化学武器”,因为它们的化合物可以驱虫,或保护植物免受细菌或真菌的侵袭。它们还充当“植物信息素”,吸引和引诱传粉者。精油中的含氧分子作为细胞的化学信使,为植物带来活力,消灭害虫,促进生长,并促进愈合。更具诗意的人认为它们如同植物灵魂的精髓,它们空灵的本质浓缩为香气,植物通过香气与周围的世界进行交流。此前已有研究人员报道了精油的治疗特性^[17,18]。

天然精油是挥发性液体香气,主要由植物产生。这些精油产生于叶片的叶绿体、细胞壁的叶绿体层或通过某些糖苷的水解而产生。人们对精油的兴趣日益浓厚,并已证明其对各种害虫(包括昆虫、螨虫、真菌和线虫)有效^[19-21]。总体而言,毒性最强的精油是百里香、牛至、罗勒、迷迭香和薄荷;然而,对各种精油进行更广泛的测试,可能会发现某些精油对某些害虫有特定的功效。

2 材料和方法

2.1 精油的分离

晚香玉精油晚香玉和葱属植物 *sativum* 的提取物是通过英国药典中描述的水蒸馏法获得的^[22]。*Polinthes* 的生物活性化合物 *hecogenin tuberosa* 购自美国 Sigma Chemicals 公司,大蒜素购自 *Allium sativum*,采用 Singh 和 Singh^[23]的方法在实验室中合成,并由 Tiwari 和 Singh^[24]改进。

2.2 蜗牛的采集

椎实螺成虫 在戈勒克布尔的湖泊和低洼淹没区采集了 20 只尖头螺(体长 2.25 ± 0.20 厘米)。将螺体在 $25 \pm 10^\circ\text{C}$ 的脱氯自来水中驯化 72 小时。水体 pH 值为 7.1-7.3,其中消失氧、游离二氧化碳和碳酸氢盐碱度分别设定为 6.5-7.2 毫克/升、5.2-6.3 毫克/升和 102.0-105.0 毫克/升。

2.3 所用化学品

碘化乙酰硫代胆碱(ATChI); 5,5-二硫代双-2-硝基苯甲酸酯(DTNB); 乌巴因(1β , 3β , 5β , 11α , 14 , 19 -六羟基卡-20^[22]烯醇内酯 3-[6 脱氧 α -L-甘露吡喃糖苷]; β , 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(pNADH); 丙酮酸钠; 所有这些化学品均由美国 Sigma Chemicals 公司提供。将蜗牛暴露于水族箱中 24 小时,暴露于 40%和 80%24 hLC₅₀的不同植物源杀软体动物剂精油及其生物活性化合物的亚致死浓度(表 1)。

表 1 不同植物源杀螺剂精油的亚致死浓度在针对蜗牛 *L. acuminata* 的生化测定中

杀软体动物剂	24h LC ₅₀	40% of 24h LC ₅₀	80% of 24h LC ₅₀
晚香玉球茎	1.57	0.62	1.5
葱属 大蒜鳞茎	1.35	0.54	1.0
赫科皂苷	1.19	0.47	0.9
大蒜素	1.25	0.5	1.0

2.4 生化评估

将蜗牛暴露于 40%和 80% (24 小时 LC₅₀) 的亚致死浓度的精油和不同的杀软体动物剂中 24 小时 (表 1)。每个浓度制备 6 个批次。对照水族箱中装有不含杀软体动物剂的颗粒。

2.5 体内酶测定

2.5.1 乙酰胆碱酯酶

L. acuminata 神经组织中的乙酰胆碱酯酶活性。将神经组织 (50 mg/ml) 在 0.1M 磷酸盐缓冲液 (pH8.0) 中冰浴匀浆 5 分钟, 然后在 40°C 下以 1000xg 离心 30 分钟。清澈的上清液作为酶源。在 10 mm 光程比色皿中, 使用由 0.1ml 酶源、2.9ml 0.1M 磷酸盐缓冲液 (pH 8.0)、0.1ml 显色剂 DTNB (5,5-二硫代双-2 硝基苯甲酸酯) 和 0.2 ml 新鲜制备的乙酰硫代胆碱组成的孵育混合物测定酶活性。在 25°C 下, 用分光光度计连续观察 3 分钟在 412nm 处的光密度吸光度变化。

2.5.2 磷酸酶活性

磷酸酶活性测定采用 Bergmeyer^[27]的方法, 该方法由 Singh 和 Agarwal^[28]改进。将神经组织匀浆 (2%w/v), 置于预冷的 0.9%NaCl 溶液中, 以 5000xg 的速度在 40°C下离心 20 分钟。取上清液作为酶源。用对硝基苯酚绘制标准曲线。

2.5.3 碱性磷酸酶

为测定碱性磷酸酶, 将 0.1ml 酶源上清液加入 1.0ml 碱性缓冲底物溶液 (制备方法: 将 375mg 甘氨酸、10mgMgCl₂·6H₂O 和 165mg 对硝基苯酚磷酸钠溶于 42ml 0.1N NaOH 溶液中, 用双蒸水定容至 100 ml)。充分混合后, 在 37°C 下孵育 30 分钟。在孵育混合物中加入 10ml 0.02N NaOH。加入过量的 NaOH 溶液终止反应。碱性磷酸酶的活性通过比色法在 420 nm 处测定, 该值是通过通过对硝基苯磷酸盐缓冲液水解产生的硝基苯酚的黄色来衡量的。酶活性以水解底物微摩尔数/30 分钟/毫克蛋白质表示。

2.5.4 酸性磷酸酶

酸性磷酸酶活性测定如下: 将 0.2ml 含酶源的上清液和 1.0ml 预孵育 (10 分钟) 的酸性缓冲底物溶液 (将 0.41g 柠檬酸、1.125g 柠檬酸钠和 165 mg 对硝基苯磷酸二钠溶于 100ml 双蒸水中制备) 加入孵育液中, 充分混合, 并在 370°C 下孵育 30 分钟。然后, 将 4.0ml 0.1N NaOH 加入孵育液中。由于对硝基苯酚的形成, 溶液呈现黄色。在 420 nm 处测定

酸性磷酸酶的活性。酶活性以水解底物微摩尔数/30 分钟/毫克蛋白质表示。

2.5.5 Na⁺/K⁺ATP 酶

Svobodo 法测定 Na⁺/K⁺ATPase 酶的活性 Mossinger^[29]方法, 经 Singh 和 Singh^[30]修改。将 50mg 神经组织在 1.0ml 0.32M 冷蔗糖溶液中均质化 5 分钟, 然后在 4°C 下以 800g 离心 10 分钟。将获得的上清液用作酶源。同时测定 Mg⁺⁺-ATPase 和 Mg⁺⁺、Na⁺/K⁺激活的 ATPase 活性。两者之间的酶活性差异被视为 Na⁺/K⁺ATPase 活性。总 ATPase 的培养基含有 0.2ml 上清液、0.25ml Tris HCl 缓冲液 (50mM, pH7.5)、0.25ml NaCl (100mM)、0.25ml KCl (20 mM) 和 0.25ml MgCl₂ (4 mM)。Mg⁺⁺-ATPase 的培养基与之前的类似, 只是它含有 120mM NaCl、2×10⁻⁴M 乌巴因 (用于抑制 ATPase), 并且不含 KCl。在添加底物启动酶反应之前, 将两种混合物在 37°C 下预孵育 10 分钟。将反应混合物与底物在 37°C 下孵育 15 分钟。通过添加 0.5ml 10%全氯乙酸(PCA) 终止反应, 并在冰水中放置 5 分钟。通过 Fiske 和 Subbarow^[15]的方法释放无机磷酸盐(Pi)。用移液器移出 1ml 反应混合物 (含有脂质层), 并将 0.4 ml 10%TCA 添加到反应混合物中并加热。加热后, 加入 0.4ml 2.5%钼酸铵溶液和 0.2ml 氨基萘磺酸 (ANSA 试剂), 并将反应混合物在 80°C 下加热 15 分钟。将反应混合物冷却至室温, 用 4.0 ml 蒸馏水稀释, 并静置 5 分钟。以空白对照为对照, 在 640nm 处读取吸光度。空白对照由 1.0ml 蒸馏水、0.4mlTCA、0.4 ml 钼酸铵溶液、0.2mlANSA 试剂和 4.0ml 蒸馏水组成, 但不加入组织匀浆。酶活单位表示为 μ mole Pi 释放 mg⁻¹ 蛋白质 h⁻¹。

2.5.6 乳酸脱氢酶

LDH 活性的测定依据 Anon^[31] (经 Singh 和 Agarwal^[32]修改) 的方法。将组织匀浆 (50mg/ml) 于 0.1M 磷酸盐缓冲液 (pH-7.5) 中 5 分钟, 并在 -4°C 下离心 (10000g×30 分钟)。向 0.01ml 酶源 (上清液) 中加入 0.5ml 丙酮酸底物 (10mgNADH 溶于 10ml0.75mM/l 丙酮酸缓冲液, pH-7.5) 并在 37°C 下保持孵育 45 分钟。向其中加入 0.5ml2,4-二硝基苯肼溶液 (0.2g2,4-二硝基苯肼溶于 8.5ml 浓 HCl 中并定容至 1L), 并将混合物在室温下静置 20 分钟。最后, 将 5.0ml0.4NNaOH 加入混合物中, 室温静置 30 分钟。通过监测 540nm 处吸光度的下降来测量 LDH

活性。将数值转化为 LDH 单位,并以丙酮酸还原/分钟/毫克蛋白质表示。

2.6 蛋白质的估算

蛋白质含量估算按照 Lowry 等人^[33]的方法进行,以牛血清白蛋白为标准。结果表示为 6 次重复实验的平均值±标准误差。

2.7 统计分析

对对照组和测试组进行了学生 t 检验,以找出显著差异 ($P<0.05$)^[34]。

3 结果

植物源性杀螺剂精油及其活性成分在体内暴露 24 小时,分别以 40%和 80%的 24 小时 LC₅₀ 进行亚致死暴露,导致 *L. acuminata* 蜗牛神经组织中乙酰胆碱酯酶 (AChE)、ACP/ALP、LDH 和 Na⁺K⁺ATPase 活性显著降低,且呈剂量依赖性。对照组动物神经组织中乙酰胆碱酯酶活性为 0.087- μ moles-SH 水解/分钟/毫克蛋白。暴露于 40%和 80%的 24 小时 LC₅₀ 的亚致死浓度晚香玉当蜗牛暴露于浓度为 80%的葱属植物精油中时,块茎对蜗牛的毒性作用显著 ($P<0.05$)大蒜球茎(对照组的 63.86%)。除海可皂苷和大蒜素外,所有植物源杀螺剂暴露于 40%24 小时 LC₅₀ 的精油后,其神经组织中的碱性磷酸酶活性均未受到显著抑制(表 3)。在对照组中,*L. acuminata* 的神经组织中酸性磷酸酶 (ACP) 活性为 2.05 微摩尔/30 分钟/毫克蛋白质。在暴露于 40%和 80%24 小时 LC₅₀ 的含有大蒜精油的植物源杀螺剂后,*L. acuminata* 神经组织中的酸性磷酸酶活性受到显著抑制。*sativum* 球茎。在暴露于 80%24hLC₅₀ 的大蒜素的 *L. acuminata* 神经组织中观察到 ACP 活性的最大抑制(对照组的 43.9%)。在对照组动物中,媒介蜗牛 *L. acuminata* 神经组织中的乳酸脱氢酶 (LDH) 活性为 333.59 μ moles/30min/mg 蛋白质。在暴露于 80%24hLC₅₀ 的 *hecogenin* 精油的 *L. acuminata* 神经组织中观察到 LDH 活性的最大降低(对照组的 64.13%) (表 5)。在对照组动物中,媒介蜗牛 *L. acuminata* 神经组织中的 Na⁺K⁺ATPase 活性为 1.05Pi 释放的 μ moles/30min/mg 蛋白质。40%和 80%的植物源性杀螺剂精油及其活性成分暴露,导致 *L. acuminata* 神经组织中 Na⁺K⁺ATPase 活性显著降低。在暴露于 80%24hLC₅₀ 的晚香玉精油的 *L. acuminata* 神经组织中观察到最大抑制(对照组的 20.95%)。晚香玉鳞茎(表 6)。

4 讨论

从结果部分可以明显看出,将蜗牛暴露于亚致死浓度,即 24 小时 LC₅₀ 的 40%和 80%的不同植物源性杀螺剂(晚香玉球茎油、海可皂苷、大蒜素)中,会导致蜗牛神经组织中乙酰胆碱酯酶 (AChE)、酸性/碱性磷酸酶 (ACP/ALP)、乳酸脱氢酶 (LDH) 和 Na⁺K⁺ATPase 活性显著抑制。AChE 的抑制会导致 ACh 在突触处积聚,从而使突触后膜处于持续刺激状态,从而导致瘫痪、共济失调、神经肌肉系统普遍缺乏协调,并最终导致死亡^[35]。碱性磷酸酶 (ALP) 在蛋白质合成、壳形成和其他分泌活动中起着关键作用,它的抑制可能导致腹足类动物蛋白质水平降低。酸性磷酸酶 (ACP) 是一种溶酶体酶,在分解代谢、病理性坏死、自溶和吞噬作用中起着重要作用,它也被这些精油和植物源杀软剂的生物活性化合物抑制^[36]。当蜗牛暴露于不同植物源杀软剂的亚致死浓度精油时,Na⁺K⁺ATPase 活性显著降低。Na⁺K⁺ATPase 是神经递质过程中必不可少的酶,它维持离子梯度、膜电位和渗透平衡。钠通道激活的持续刺激钠内流,这改变 Na⁺K⁺ATPase 的活性,将钠泵出并引起神经递质的释放。

AFP 暴露过程中动作电位的紊乱可能对蜗牛至关重要。所有包含在 AFP 中的植物源杀软体动物剂均能抑制 LDH 活性,表明它们作用于蜗牛体内的厌氧代谢。本研究中,所有这些植物源杀软体动物剂直接溶于水族箱水中,也会导致病媒蜗牛 *L. acuminata* 神经组织中不同酶活性的显著变化^[37]。晚香玉精油处理夜来香球茎及其活性化合物 *hecogenin* 可显著抑制蜗牛 *L. acuminata* 神经组织中的 AChE、ACP/ALP、LDH 和 Na⁺K⁺ATPase 活性。大蒜球茎精油及其活性化合物大蒜素也可显著抑制蜗牛 *L. acuminata* 神经组织中的 AChE、ACP/ALP、LDH 和 Na⁺K⁺ATPase 活性^[38]。本研究明显表明,先前在水族箱水中直接用于对抗有害蜗牛 *L. acuminata* 的植物源杀螺剂精油在暴露于水中时,能以类似的方式选择性地有效杀死它们^[39,40]。先前已观察到从不同植物中提取的许多精油对具有经济价值的蜗牛表现出强效杀螺和驱除活性^[41-44]。从以上讨论可以清楚地看出,精油对不同吸虫的蜗牛宿主具有强大的杀灭软体动物特性。

表 2 不同植物源杀螺剂及其活性化合物的 24 小时 LC₅₀ 的 40%和 80%的精油体内暴露 24 小时对 L.acuminata 神经组织中乙酰胆碱酯酶活性的影响

治疗	AChE-μ 摩尔-SH 水解/min/mg 蛋白质	
	40% of 24h LC ₅₀	80% of 24h LC ₅₀
控制	1.08±0.06(100)	1.08±0.06(100)
晚香玉球茎	0.98±0.07(90.74)	0.77±0.06(71.29)*
葱属大蒜鳞茎	1.02±0.06(94.44)	0.69±0.02(63.86)*
赫科皂苷	1.04±0.06(96.29)	0.75±0.05(69.44)*
大蒜素	0.86±0.06(79.62)	0.79±0.07(73.14)*

注：数值为六次重复实验的平均 SE。括号中的值表示酶活性百分比，以对照组为 100%。（*）当使用学生 t 检验来定位实验组和对照组动物之间的差异时，具有显著性（P<0.05）。

表 3 50 精油在体内 24h 暴露对 L.acuminata 神经组织碱性磷酸酶活性的影响

治疗	ALP-μ 摩尔/30 分钟/毫克蛋白质	
	40% of 24h LC ₅₀	80% of 24h LC ₅₀
控制	1.28±0.06(100)	1.28±0.06(100)
晚香玉球茎	1.98±0.07(90.74)	1.77±0.06(71.29)*
葱属大蒜鳞茎	1.12±0.06(94.44)	1.69±0.02(63.86)*
赫科皂苷	1.14±0.06(96.29)	0.85±0.05(69.44)*
大蒜素	0.96±0.06(79.62)	0.89±0.07(73.14)*

表 4 不同植物源杀螺剂及其活性化合物的 24 小时 LC₅₀ 的 40%和 80%精油体内暴露 24 小时对 L.acuminata 神经组织酸性磷酸酶活性的影响

治疗	ACP-μ 摩尔/30 分钟/毫克蛋白质	
	40% of 24h LC ₅₀	80% of 24h LC ₅₀
控制	2.05±0.05(100)	2.05±0.05(100)
晚香玉球茎	1.18±0.02(57.56)*	0.99±0.02(48.29)*
葱属大蒜鳞茎	1.53±0.02(74.63)*	1.4±0.04(68.29)*
赫科皂苷	1.13±0.02(55.12)*	0.93±0.02(45.36)*
大蒜素	1.04±0.03(50.73)*	0.90±0.02(43.9)*

注：数值为六次重复实验的平均标准误。括号中的数值表示酶活性百分比，对照组为 100%。（*）使用学生 t 检验来定位实验组和对照组之间的差异时，结果显著（P<0.05）。

表 5 50 精油及其生物活性化合物在体内 24h 暴露对 L.acuminata 神经组织中乳酸脱氢酶活性的影响

治疗	LDH-μ 摩尔/30 分钟/毫克蛋白质	
	40% of 24h LC ₅₀	80% of 24h LC ₅₀
控制	333.59±2.3 (100)	333.59±2.3 (100)
晚香玉球茎	266.38±0.83(79.85)*	259.26±0.88(77.71)*
葱属大蒜鳞茎	330.59±2.3(99.1)	265.09±0.88(79.46)*
赫科皂苷	277.32±4.5(83.13)*	213.96±1.3(64.13)*
大蒜素	306.4±1.04(91.84)*	269.87±0.88(80.89)*

注：数值为六次重复实验的平均标准误。括号中的数值表示酶活性百分比，对照组为 100%。（*）使用学生 t 检验来定位实验组和对照组动物之间的差异时，结果显著（P<0.05）。

表 6 50 的 40%和 80%的精油及其生物活性化合物在 *L.acuminata* 神经组织中 Na⁺/K⁺刺激的 ATPase 活性的体内暴露 24 小时的影响

治疗	Na ⁺ /K ⁺ 刺激的 ATPase-摩尔/30 分钟/毫克蛋白质	
	40% of 24h LC ₅₀	40% of 24h LC ₅₀
控制	1.05±0.003(100)	1.05±0.003(100)
晚香玉球茎	0.56±0.006(53.33)*	0.22±0.01(20.95)*
葱属大蒜鳞茎	1.01±0.01(96.16)*	0.74±0.001(70.47)*
赫科皂苷	1.0±0.01(95.23)*	0.94±0.001(89.52)*
大蒜素	0.9±0.008(85.71)*	0.46±0.02(43.8)*

注：数值为六次重复实验的平均标准误。括号中的数值表示酶活性百分比，对照组为 100%。(*)使用学生 t 检验来定位实验组和对照组动物之间的差异时，结果显著(P<0.05)。

5 结论

从上述研究可以得出结论，精油具有巨大的潜力，可以通过打破片形吸虫的生命周期来根除片形吸虫病这一主要问题。在此背景下，重要媒介蜗牛椎实螺的种群数量使用这些植物精油可以控制尖头软体动物。这些精油现在被认为是有效的草药杀软体动物剂。

致谢

作者感谢戈勒克布尔圣雄甘地研究生学院当局提供实验室设施。

参考文献

- [1] Abd-El Hamid, A. Z. (1997). Development of bait formulations for control of intermediate hosts of African schistosome species. *Journal of applied toxicology*, 17:6: 391-395.
- [2] Agarwal, R. A. and Singh, D. K. (1988). Harmful gastropods and their control. *Acta hydrochimica et hydrobiological*, 16: 113-138.
- [3] Tiwari, F., Singh, K. and Singh, D. K. (2008). Enzyme inhibition by different bait formulations in the nervous tissue of the snail *Lymnaea acuminata*. Chapter XIII, *Environmental Pollution and Toxicology*, pp. 115-128.
- [4] Singh, O. and Agarwal, R. A. (1981). Toxicity of certain pesticides to two economic species of snails in northern India. *J Econ Entomol*, 74:568-571.
- [5] Godan, D. (1983). *Pests slugs and snails. Biology and control* (ed., Dora Godan) translated by Sheila Grouber, Springer Verlag. 244 Berlin Heidelberg New York.
- [6] Marston, A. and Hosttetmann, K. (1985). Plant molluscicides. *Phytochemistry*, 24:639-652.
- [7] Marston, A. and Hosttetmann, K. (1987). Antifungal, molluscicidal and cytotoxic compounds from plants used in traditional medicines. In: "Biologically Active Natural Products" (Ed. Hosttetmann, K and Lea, PJ). Clarendon Press Oxford, pp. 65-83.
- [8] Ndamba, J. (1995). Response of the molluscicidal berry plant *Phytolacca dodecandra* to different climatic and edaphic conditions. *Trop Agric*, 72:135-140.
- [9] Singh, A., Singh, D. K., Mishra, T. N. and Agarwal, R. A. (1996). Molluscicides of plant origin. *Biol Agri Hortic*, 13:205-252.
- [10] Singh, K. and Singh, D. K. (2000). Effect of different combinations of MGK-264 and piperonyl butoxide with plant derived molluscicides on snail reproduction. *Arch Environ Contam Toxicol*, 38:182-190.
- [11] MacInnis, A. J., Bethal, W. M. and Cornford, E. M. (1974). Identification of chemicals of snail origin that attract *Schistosoma mansoni* miracidia. *Nature*, 248:361-363.
- [12] Sterry, P. R., Thomas, J. D. and Patience, R. L. (1985). Changes in the concentrations of short-chain carboxylic acids and gases during decomposition of the aquatic macrophytes *Lemna paucicostata* and *Ceratophyllum demersum*. *Freshw Biol*, 15:139-153.
- [13] Thomas, J. D. (1982). Chemical ecology of the snail hosts of schistosomiasis: snail-snail and snail-plant interactions. *Malacol*, 33:81-91.
- [14] Thomas, J. D., Kowalczyk, C. and Somsundaram, B. (1989). The biochemical ecology of *Biomphalaria glabrata*,

- a snail host of *Schistosoma mansoni*; short chain carboxylic and amino acids as phagostimulants. *Comp Biochem Physiol*, 93A:899-911.
- [15] Kpikpi, J. E. K. and Thomas, J. D. (1992). A study of sugar chemoreception niches of two bulinid snail hosts of schistosomiasis. *Ann Trop Med Parasitol*. 86:181-198.
- [16] Tiwari, F. and Singh, D. K. (2004). Behavioural responses of the snail *Lymnaea acuminata* to carbohydrates in snail attractant pellets. *Naturewissenschaften*, 91:378-380.
- [17] Madsen, H. (1992). A comparative study on the food locating ability of *Helisoma duryi*, *Biomphalaria camerunensis* and *Bulinus truncatus* (Pulmonata:Planorbidae). *J Appl Ecol.*, 29:70-78.
- [18] Tiwari, F. and Singh, D. K. (2004) Attraction to amino acids by *Lymnaea acuminata*, the snail host of *Fasciola* species. *Braz J Med Biol Res.*, 37:587-590.
- [19] Russel, R. M., Robertson, J. L. and Savin, N. E. (1977). POLO: A new computer programme for probit log analysis. *Bull Entomol Soc Amer.*, 23:209-213.
- [20] Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. (1973). Introduction to Biostatistics. W H Freeman, San Francisco, 368pp.
- [21] Singh, V. K. and Singh, D. K (1995). Characterization of allicin as a molluscicidal agent in *Allium sativum*. *Biol Agric Hortic.*, 12:119-293.
- [22] Singh, K., Singh, A. and Singh, D. K. (1996). Molluscicidal activity of neem (*Azadirachta indica* A. Juss). *J of Ethnopharmacol.*, 52:35-40.
- [23] Singh, K., Singh, V. K. Singh, D. K. (1999). Effect of *Polianthes tuberosa* (Amarillidaceae) on the reproduction and biochemical parameters in the ovotestis of the snail *Lymnaea acuminata* (Mollusca:Pulmonata). *Acta Hydrochim Hydrobiol*, 27:32-37.
- [24] Singh, V. K. and Singh, D. K. (1996). Molluscicidal activity of pre- and post-harvest (garlic) *Allium sativum*. *Biol Agric Hortic*, 12:31.
- [25] Singh, K., Singh, A. and Singh, D. K. (1995). Molluscicidal activity of different combinations of the plant products used in the molluscidicide Pestoban. *Biol Agri Hortic*, 12:253-261.
- [26] Tiwari, F. (2021). Efficacy of Essential Oils from Plant Origin Molluscicides against the vector snail *Lymnaea acuminata*. *International Journal of Food Science and Agriculture*, 5(4): 654-657.
- [27] Tiwari, F. (2022). Molluscicidal Effect of Essential Oils from Plant Origin against the Vector Snail *Lymnaea acuminata*. *Annals of Plant Sciences*, 11(02):4797-4801.
- [28] Tiwari, F. and Singh, D. K. (2007). Toxicity of plant derived molluscicides in attractant food pellets against snail, *Lymnaea acuminata*. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 6:103-107.
- [29] Svoboda, P. and Mossinger, B. (1981). Catecholamines and brain microsomal Na⁺/K⁺ ATPase. I. Protection against lipoperoxidative damages. *Biochemical Pharmacology*, vol. 30, pp. 427-432.
- [30] Tiwari, F. (2012). Bait formulation toxicity of plant derived molluscicides in attractant food pellets against vector snail, *Lymnaea acuminata*. *World Journal of Zoology*, 7(1):55-59.
- [31] Tiwari, F. (2013). Behavioural Responses of *Indoplanorbis exustus* Snails Against Different Amino Acids in Bait Formulation. *Researcher*, 5(4):16-18.
- [32] Ellman, G. L., Courtney, K.D., Andres V. and Feather Stone, R. I. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, vol. 7, pp. 88-95.
- [33] Bergmeyer, U. H. (1967). Methods of enzymatic analysis. Academic Press, New York, 3rd Ed., p. 1129.
- [34] Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. (1973). Introduction to Biostatistics. W H Freeman, San Francisco, p. 368.
- [35] Fiske, C.H. and Subbarow, Y. (1925). The colorimetric determination of phosphorus. *Journal of Biological Chemistry* vol. 66, pp. 375-400.
- [36] Legrand, C., Bour, J. M., Jacob, C., Capiuamont, J., Martial, A., Marc, A, wudtke, M., Kretzmer, G., Demangel, C., Duval, D., and Hache, J. (1992). Lactate dehydrogenase (LDH) activity of the number of dead cells in the medium of cultured eukaryotic cells as marker. *Journal of Biotechnology*, vol. 25, pp. 231-243.
- [37] Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall,

- R. J. (1951). Protein measurement with folin phenol reagent. *Ibid.* vol. 193, pp. 265-275.
- [38] Ali, M. A., Doaa, A., and Abou, E. A. (2023) Molluscicidal activity of thymol and thyme essential oil against two land snail species, *Succinea putris* and *Eobania vermiculata*. *International Journal of Agriculture and Plant Science*, 5(1):61-66.
- [39] Mitsue, I., Natânia, C. S., Ygor, H. S., Jankerle, N. B., Mariana, D. C. I., Barbara, R. A., and Vagner, T. Q. (2022). Chemical composition and effect of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on adults and ovigerous masses of *Pseudosuccinea columella*. *Research Square*, 11:1-14.
- [40] Luu, H. V. L., Naguyen, H. H., Satyal, P., Vo, V. H., Ngo, G. H., Pham, V. T. and Setzer, W. N. (2023). Chemical Composition, Larvicidal and Molluscicidal Activity of Essential Oils of Six Guava Cultivars Grown in Vietnam. *Plants (Basel)*. 12(15):2888.doi: 10.3390/plants12152888.
- [41] Tiwari, F. (2023). Molluscicidal Efficacy of Essential oils of *Syzygium aromaticum* clove and *Tachyspermum ammi* seeds against the vector snail *Lymnaea acuminata*. *Journal of Plant Science and Phytopathology*, 7: 139-141.
- [42] Ali, M. A., Doaa, A and Atta, A. E. (2023). Molluscicidal activity of thymol and thyme essential oil against two land snails species, *Succinea putris* and *Eobania vermiculata*. *International Journal of Agriculture and Plant Science*, 5(1): 61-66.
- [43] Abobkr, Y., Al-Sarar, S. A., and Abdel-Kader, S. M. (2022). Fumigant Toxicity and Feeding Deterrent Activity of Essential Oils from *Lavandula dentata*, *Juniperus procera*, and *Mentha longifolia* against the Land Snail *Monacha obstructa*. *Agriculture*, 12, 934. <https://doi.org/10.3390/agriculture12070934>.
- [44] Desouky, M. M. A., Abd El-Atti, M. S., Elsheakh, A. A., and Elgohary, W. S. (2022). Effect of *Eucalyptus globulus* oil and *Ricinus communis* methanolic extract as potential natural molluscicides on the reproductive biology and some antioxidant enzymes of the land snail, *Theba pisana*, 8(12):e12405. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e12405.

版权声明: ©2025 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS