

# 新烟碱类和阿维菌素类药剂对蚯蚓的急性毒性效应

王彦华, 陈丽萍, 赵学平, 吴长兴, 苍 涛, 俞瑞鲜, 吴声敢, 王 强

(浙江省植物有害生物防控重点实验室——省部共建国家重点实验室培育基地, 农产品质量标准研究所 浙江省农业科学院, 杭州 310021)

**摘要:**为评价农药对蚯蚓的生态风险提供基础数据,采用滤纸法和人工土壤法测定了新烟碱类和阿维菌素类药剂对蚯蚓的急性毒性效应。滤纸法测定结果表明,吡虫啉、啶虫脒、烯啶虫胺、氯噻啉和噻虫啉5种新烟碱类药剂对蚯蚓的 $LC_{50}$ 值范围为0.0089( $0.0075\sim0.010$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ~0.44( $0.34\sim0.56$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (48 h结果),噻虫嗪对蚯蚓的 $LC_{50}$ 值在24 h和48 h均大于 $62.91\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ;阿维菌素、依维菌素和甲氨基阿维菌素苯甲酸盐3种阿维菌素类药剂对蚯蚓的 $LC_{50}$ 值范围为4.52( $3.71\sim5.50$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ~22.76( $18.68\sim27.73$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (48 h结果)。人工土壤法测定结果表明,5种新烟碱类药剂(除噻虫嗪外)对蚯蚓的 $LC_{50}$ 值范围为1.54( $1.43\sim1.71$ ) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ~17.29( $16.44\sim19.41$ ) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (14 d结果),噻虫嗪对蚯蚓的 $LC_{50}$ 值在第7 d和14 d均大于 $1200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;3种阿维菌素类药剂对蚯蚓的 $LC_{50}$ 值范围为27.93( $26.04\sim29.81$ ) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ~175.33( $162.82\sim188.91$ ) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (14 d结果)。根据《化学农药环境安全评价试验准则》,吡虫啉、啶虫脒和烯啶虫胺对蚯蚓属于中毒级,其他的药剂对蚯蚓属于低毒级。

**关键词:**新烟碱类药剂;阿维菌素类药剂;蚯蚓;急性毒性

中图分类号:X503.223 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2010)12-2299-06

## Acute Toxicity of Neonicotinoids and Avermectins to Earthworm, *Eisenia foetida*

WANG Yan-hua, CHEN Li-ping, ZHAO Xue-ping, WU Chang-xing, CANG Tao, YU Rui-xian, WU Sheng-gan, WANG Qiang

(State Key Laboratory Breeding Base for Zhejiang Sustainable Pest and Disease Control, Institute of Quality and Standard for Agro-Products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

**Abstract:** To evaluate ecological risk of pesticides to earthworm, *Eisenia foetida*, filter paper testing and artificial soil testing methods were applied to determine the acute toxicity of neonicotinoids and avermectins to *E. foetida*. The results of filter paper test showed that the  $LC_{50}$  values(48 h contact toxicity) ranged from 0.0089( $0.0075\sim0.010$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  to 0.44( $0.34\sim0.56$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  for imidacloprid, acetamiprid, nitenpyram, imidaclothiz and thiacloprid to *E. foetida*. The 24 h and 48 h  $LC_{50}$  values of thiamethoxam to *E. foetida* were higher than  $62.91\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ . Moreover, the  $LC_{50}$  values of abamectin, ivermectin and emamectin benzoate to *E. foetida* were between 4.52( $3.71\sim5.50$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  and 22.76( $18.68\sim27.73$ ) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (48 h results). The results of artificial soil test showed that the  $LC_{50}$  values of neonicotinoids(except for thiamethoxam) to *E. foetida* ranged from 1.54( $1.43\sim1.71$ ) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  to 17.92( $16.44\sim19.41$ ) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (14 d results), and the  $LC_{50}$  values of thiamethoxam to *E. foetida* were more than  $1200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  after 7 d and 14 d. Moreover, the  $LC_{50}$  values of avermectin insecticides to *E. foetida* were between 27.93( $26.04\sim29.81$ ) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  and 175.33( $162.82\sim188.91$ ) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  after 14 d. Our results indicated that imidacloprid, acetamiprid and nitenpyram have moderate toxicity, while other pesticides have low toxicity to *E. foetida*, based on the classification standard of the Test- ing Guidelines for Environmental Safety Evaluation of Chemical Pesticides.

**Keywords:** neonicotinoids; avermectins; earthworm; acute toxicity

蚯蚓是土壤中生物量最大的动物类群之一,在土壤物理性状的改良以及植物营养循环方面具有重要

收稿日期:2010-07-10

基金项目:科技部国际合作项目(S2010GR0905);浙江省重大科技专项(2006C12023);浙江省农业科学院创新能力提升工程项目;浙江省农业科学院博士启动基金项目

作者简介:王彦华(1979—),男,博士,主要从事农药应用与生态毒理学研究。E-mail:wangyanh79@163.com

通讯作者:赵学平 E-mail:zhaoxueping@tom.com

作用<sup>[1]</sup>。由于蚯蚓直接露于土壤污染物中,并对多种污染物敏感,利用蚯蚓指示土壤污染状况,已经成为土壤污染生态毒理诊断的一个重要指标<sup>[2-3]</sup>。近年来,由于气候、作物栽培制度及病虫草害产生抗药性等因素,农业有害生物危害日益严重,农药被大量广泛使用,以保证农作物的稳产和高产<sup>[4]</sup>。大量研究表明,农药是土壤中污染物的重要组成部分<sup>[5]</sup>。

将蚯蚓作为载体,研究农药对蚯蚓的生态毒理效

应,在国内外已有诸多报道,但所涉及的农药品种多为常规的有机氯类、有机磷类、氨基甲酸酯类和沙蚕毒素类等药剂<sup>[6-11]</sup>。新烟碱类(吡虫啉、啶虫脒、烯啶虫胺、氯噻啉、噻虫啉及噻虫嗪)和阿维菌素类(阿维菌素、依维菌素及甲氨基阿维菌素苯甲酸盐)是目前发展较快的农药种类,它们对多种重要农业害虫显示出较高的杀虫活性,而且对哺乳动物低毒,正在被世界各地广泛使用<sup>[12-13]</sup>。至今,有关上述两类药剂对蚯蚓的急性毒性效应报道较少。本文采用滤纸法<sup>[14]</sup>和人工土壤法<sup>[15]</sup>测定了新烟碱类和阿维菌素类药剂对蚯蚓的急性毒性,为进一步研究它们对蚯蚓的分子毒理学效应,全面评价其毒性及合理施用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 受试生物

试验选用由浙江大学动物科学学院蚯蚓养殖场提供的赤子爱胜蚯蚓(*Eisenia foetida*),先预养一段时间,然后挑选2月龄以上,体重为400~500 mg,环带明显且大小一致的健康成蚯进行试验。

#### 1.1.2 受试农药

新烟碱类:95.3%吡虫啉原药和97%啶虫脒原药,由江苏常隆化工有限公司提供;95%烯啶虫胺原药和95%氯噻啉原药,由江苏南通江山农药化工股份有限公司提供;97.75%噻虫啉原药,由天津兴光农药有限公司提供;97.7%噻虫嗪原药,由先正达公司提供。

阿维菌素类:93%(B1a)阿维菌素原药和61.1%(B1)甲氨基阿维菌素苯甲酸盐原药,由河北威远生物化工股份有限公司提供;90.73%(B1)依维菌素原药,由浙江海正化工股份有限公司提供。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 滤纸法

①向底部铺有一层滤纸的烧杯中加入少量蒸馏水,以刚浸没滤纸为宜。将蚯蚓放在滤纸上,用塑料薄膜封口,并用解剖针把塑料薄膜扎孔,将烧杯放入温度为(20±1)℃,湿度为80%~85%的恒温箱中清肠24 h。②在直径9 cm的培养皿中垫入直径为11 cm的一层滤纸(滤纸包住培养皿边缘)。取丙酮配制的一定浓度的药液2 mL于滤纸上,每种药剂设6个浓度,每个浓度设30个平行,同时设溶剂对照组和空白对照组。培养皿于通风橱中放置1 d,待丙酮挥发完全后加2 mL蒸馏水湿润滤纸,将清肠后的蚯蚓冲洗干净,用滤

纸吸去多余的水分后放入培养皿中(每皿1条),用塑料薄膜封口,用解剖针把塑料薄膜扎孔后置于(20±1)℃,湿度为80%~85%的恒温箱中黑暗培养,于24 h和48 h各计数1次,记录死亡数和中毒症状,以蚯蚓前尾部对机械刺激无反应视为死亡。

#### 1.2.2 人工土壤法

①人工土壤根据OECD 207 Guideline NO.207中提出的标准方法配制。②将药剂用丙酮溶解后拌于10 g石英砂中,待丙酮完全挥发后与490 g人工土壤混匀,加入蒸馏水使土壤含水量为35%左右。③将上述含药剂的人工土壤放入500 mL玻璃标准瓶中,再向玻璃标准瓶中放入10条在未经农药处理的人工土壤中驯养1 d的蚯蚓。用塑料薄膜封住玻璃标准瓶瓶口,然后再用解剖针把塑料薄膜扎孔后置于(20±1)℃,湿度为80%~85%的恒温箱中连续光照培养(光照强度为400~800 lx)。每种药剂设6个浓度,每个浓度设3个重复,同时设一个不含药剂的空白对照组。试验第7 d和14 d各计数1次,记录死亡数及中毒症状,以蚯蚓前尾部对机械刺激无反应视为死亡。

#### 1.2.3 数据处理

用寇氏法计算农药对蚯蚓的LC<sub>50</sub>值及其95%置信限,以LC<sub>50</sub>值95%置信限是否有重叠作为判断不同种药剂毒性差异是否显著的标准。农药对蚯蚓的毒性分级标准采用《化学农药环境安全评价的试验准则》中提出的标准(人工土壤法)<sup>[16]</sup>:LC<sub>50</sub><1.0 mg·kg<sup>-1</sup>,为高毒级;1.0~10.0 mg·kg<sup>-1</sup>,为中毒级;>10.0 mg·kg<sup>-1</sup>,为低毒级。

## 2 结果与讨论

### 2.1 滤纸法

滤纸法测定结果表明供试农药对蚯蚓的急性毒性效应与染毒时间紧密相关。蚯蚓染毒24 h时,吡虫啉、啶虫脒、烯啶虫胺和氯噻啉4种新烟碱类药剂对蚯蚓的LC<sub>50</sub>值范围为0.030(0.025~0.034)~0.58(0.49~0.69) μg·cm<sup>-2</sup>,而噻虫啉、噻虫嗪、阿维菌素、依维菌素和甲氨基阿维菌素苯甲酸盐5种药剂对蚯蚓的LC<sub>50</sub>值在本实验所设定的浓度范围内均未测出。随着蚯蚓染毒时间的延长,供试农药对蚯蚓的急性毒性效应均增加,染毒48 h时,吡虫啉、啶虫脒、烯啶虫胺和氯噻啉4种新烟碱类药剂对蚯蚓的LC<sub>50</sub>值范围为0.0089(0.0075~0.010)~0.22(0.19~0.25) μg·cm<sup>-2</sup>,且每种药剂对蚯蚓的急性毒性效应均明显增加;噻虫啉、阿维菌素、依维菌素和甲氨基阿维菌素苯甲酸盐

对蚯蚓的  $LC_{50}$  值范围为 0.44 (0.34~0.56)~22.76 (18.68~27.73)  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。总体来看, 滤纸法测定的每种供试药剂对蚯蚓暴露 48 h, 都比对其暴露 24 h 的急性毒性效应明显增加, 如吡虫啉和啶虫脒对蚯蚓暴露 48 h 比暴露 24 h 的急性毒性效应分别增加 4.3 倍和 3.4 倍(表 1)。

滤纸法测定的 2 类 9 种药剂对蚯蚓的急性毒性  $LC_{50}$  及 95% 置信限如表 1 所示。在所有测定的药剂中, 噹虫嗪对蚯蚓的毒性最低, 该药剂对蚯蚓的 24 h 和 48 h 的  $LC_{50}$  值均大于 62.91  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。测定结果表明新烟碱类药剂(除噻虫嗪外)对蚯蚓的急性毒性明显大于阿维菌素类药剂, 所有测定的药剂对蚯蚓的毒性次序为(48 h 结果): 啶虫脒>吡虫啉、氯噻啉>烯啶虫胺>噻虫啉>依维菌素>甲氨基阿维菌素苯甲酸盐>阿维菌素>噻虫嗪。新烟碱类药剂(除噻虫嗪外)对蚯蚓的中毒症状为身体柔软、充血、环带肿大、背部有黄色液体渗出、高剂量组在几分钟内就有明显的中毒症状; 在本研究噻虫嗪所有设定的浓度范围内, 蚯蚓基

本正常, 没有中毒症状发生。阿维菌素类药剂对蚯蚓的中毒症状为蚯蚓活动性下降、有断节现象、环节松散、分泌出黄色的体液等。

## 2.2 人工土壤法

同滤纸法测定结果类似, 人工土壤法测定的供试农药对蚯蚓的急性毒性效应也与染毒时间相关。蚯蚓染毒 7 d 时, 吡虫啉、啶虫脒、烯啶虫胺、氯噻啉和噻虫啉 5 种新烟碱类药剂对蚯蚓的  $LC_{50}$  值范围为 1.81 (1.63~1.94)~21.92 (20.13~23.70)  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 而阿维菌素、依维菌素和甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 3 种阿维菌素类药剂对蚯蚓的  $LC_{50}$  值范围为 31.64 (29.80~33.53)~196.72 (183.34~211.21)  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。随着染毒时间的延长, 每种供试农药对蚯蚓的急性毒性效应都增加, 但增加幅度没有滤纸法明显。染毒 14 d 时, 上述 5 种新烟碱类药剂对蚯蚓的  $LC_{50}$  值范围为 1.54 (1.43~1.71)~17.92 (16.44~19.41)  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ; 上述 3 种阿维菌素类药剂对蚯蚓的  $LC_{50}$  值范围为 27.93 (26.04~29.81)~175.33 (162.82~188.91)  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。总体来看, 人

表 1 采用滤纸法测定的新烟碱类和阿维菌素类药剂对蚯蚓的急性毒性效应

Table 1 Acute toxicological dosages of neonicotinoid and avermectin insecticides to earthworm by using contact filter test method

农药 Pesticide	24 h			48 h		
	回归方程 LD-P line	$LC_{50}(95\% CL)/\mu\text{g a.i.}\cdot\text{cm}^{-2}$	相关系数 $r$	回归方程 LD-P line	$LC_{50}(95\% CL)/\mu\text{g a.i.}\cdot\text{cm}^{-2}$	相关系数 $r$
吡虫啉 Imidacloprid	$y=3.060\ 8+3.440\ 1x$	0.12(0.096~0.14)	0.961 5	$y=5.236\ 0+3.855\ 8x$	0.028(0.023~0.033)	0.936 4
啶虫脒 Acetamiprid	$y=5.120\ 1+5.251\ 7x$	0.030(0.025~0.034)	0.934 7	$y=7.360\ 9+4.325\ 4x$	0.008 9(0.007 5~0.010)	0.964 1
烯啶虫胺 Nitenpyram	$y=0.373\ 3+3.581\ 6x$	0.58(0.49~0.69)	0.940 5	$y=0.021\ 9+5.851\ 8x$	0.22(0.19~0.25)	0.937 8
氯噻啉 Imidaclothiz	$y=3.861\ 4+3.324\ 2x$	0.093(0.075~0.12)	0.955 5	$y=5.091\ 6+2.817\ 4x$	0.030(0.025~0.037)	0.944 2
噻虫啉 Thiacloprid	-	>1.97	-	$y=2.914\ 5+1.804\ 9x$	0.44(0.34~0.56)	0.984 6
噻虫嗪 Thiamethoxam	-	>62.91	-	-	>62.91	-
阿维菌素 Abamectin	-	>62.91	-	$y=-3.459\ 9+2.952\ 2x$	22.76(18.68~27.73)	0.965 0
依维菌素 Ivermectin	-	>62.91	-	$y=-1.031\ 0+2.809\ 4x$	4.52(3.71~5.50)	0.965 4
甲维盐 Emamectin benzoate	-	>31.45	-	$y=-5.122\ 1+3.842\ 6x$	13.69(11.54~16.24)	0.979 8

表 2 采用人工土壤法测定的新烟碱类和阿维菌素类药剂对蚯蚓的急性毒性效应

Table 2 Acute toxicological dosages of neonicotinoid and avermectin insecticides to earthworm by using artificial soil test method

农药 Pesticide	7 d			14 d		
	回归方程 LD-P line	$LC_{50}(95\% CL)/\text{mg a.i.}\cdot\text{kg}^{-1}$	相关系数 $r$	回归方程 LD-P line	$LC_{50}(95\% CL)/\text{mg a.i.}\cdot\text{kg}^{-1}$	相关系数 $r$
吡虫啉 Imidacloprid	$y=-1.004\ 5+12.042\ 5x$	3.11(2.93~3.34)	0.927 5	$y=0.493\ 7+9.996\ 1x$	2.81(2.65~3.04)	0.965 1
啶虫脒 Acetamiprid	$y=2.871\ 7+9.004\ 1x$	1.81(1.63~1.94)	0.946 0	$y=3.388\ 3+8.925\ 8x$	1.54(1.43~1.71)	0.955 6
烯啶虫胺 Nitenpyram	$y=-1.274\ 4+9.724\ 6x$	4.40(4.14~4.83)	0.974 2	$y=-0.406\ 1+9.135\ 9x$	3.92(3.64~4.20)	0.973 9
氯噻啉 Imidaclothiz	$y=-4.490\ 2+7.067\ 7x$	21.92(20.13~23.70)	0.966 3	$y=-3.658\ 3+6.902\ 1x$	17.92(16.44~19.41)	0.969 9
噻虫啉 Thiacloprid	$y=-6.508\ 7+10.619\ 9x$	12.11(11.34~12.92)	0.939 7	$y=-3.890\ 1+8.550\ 3x$	11.02(10.24~11.81)	0.975 8
噻虫嗪 Thiamethoxam	-	>1 200	-	-	>1 200	-
阿维菌素 Abamectin	$y=-16.861\ 8+14.591\ 2x$	31.64(29.80~33.53)	0.920 8	$y=-10.412\ 5+10.666\ 0x$	27.93(26.04~29.81)	0.969 7
依维菌素 Ivermectin	$y=-9.732\ 2+8.036\ 3x$	68.20(63.12~73.68)	0.972 7	$y=-7.679\ 0+7.241\ 8x$	56.30(51.81~61.17)	0.964 3
甲维盐 Emamectin benzoate	$y=-17.847\ 1+9.965\ 1x$	196.72(183.34~211.21)	0.960 0	$y=-15.410\ 0+9.096\ 1x$	175.33(162.82~188.91)	0.968 7

工土壤法测定的每种供试药剂对蚯蚓暴露14 d,都比对其暴露7 d的急性毒性效应增加,但除氯噻啉、阿维菌素和依维菌素外,其他药剂对蚯蚓的急性毒性效应增加的均不明显(表2)。

人工土壤法测定的2类9种药剂对蚯蚓的急性毒性 $LC_{50}$ 及95%置信限如表2所示。同滤纸法测定结果类似,在所有测定的药剂中,噻虫嗪的毒性最低,该药剂对蚯蚓的7 d和14 d的 $LC_{50}$ 均大于1 200 mg·kg<sup>-1</sup>,而且新烟碱类药剂(除噻虫嗪外)对蚯蚓的急性毒性明显高于阿维菌素类药剂。所有测定的药剂对蚯蚓的毒性次序为(14 d结果):啶虫脒>吡虫啉>烯啶虫胺>噻虫啉>氯噻啉>阿维菌素>依维菌素>甲氨基阿维菌素苯甲酸盐>噻虫嗪。采用人工土壤法进行的农药对蚯蚓的中毒症状基本与滤纸法一致,蚯蚓暴露新烟碱类药剂(除噻虫嗪外),出现黄色体液渗出、局部肿大溃烂、环带膨大等症状;在本研究噻虫嗪所有设定的浓度范围内,蚯蚓基本正常,没有中毒症状发生;蚯蚓暴露阿维菌素类药剂后,出现体节断裂、环节松散、不钻土、个体较为安静等症状。

### 3 讨论

农药对蚯蚓的急性毒性试验简单、快速、可大致确定农药对蚯蚓的毒性高低,为慢性毒性试验和种群、群落调查分析提供依据和参考,在蚯蚓的毒性试验中有广泛应用<sup>[17]</sup>。农药对蚯蚓急性毒性效应的测试方法主要有滤纸法、人工土壤法和自然土壤法等<sup>[18]</sup>。滤纸法方便快捷,其试验结果可以初步了解农药的固有毒性和对蚯蚓的潜在毒性,可以作为一种预试验或应急预警试验的处理方式<sup>[19]</sup>。此外,滤纸法试验采用标准化的滤纸材料,可避免自然土壤法试验中由于不同土壤性质所造成的偏差,使得试验结果具有可比性。但滤纸法试验结果只是通过蚯蚓皮肤接触所产生的毒性信息,不能真实的反映实际环境中农药对蚯蚓的毒性<sup>[20]</sup>。在实际环境中,农药对蚯蚓的毒性不仅取决于农药的固有毒性,同时还与农药在土壤中的环境行为及在蚯蚓体内的代谢动力学有关<sup>[21]</sup>。尽管自然土壤法中的土壤来自实际环境中,但自然土壤中成分复杂,研究表明农药对蚯蚓的毒性与土壤性质有密切关系,不同类型的自然土壤往往对农药具有不同的吸附性质,从而导致同一农药在不同类型的自然土壤中对蚯蚓的毒性有较大差异<sup>[22]</sup>。人工土壤法能够尽可能模拟蚯蚓生活的真实环境,从而使试验结果尽可能真实地反映农药在自然界中的实际影响,而且试验的土壤

采用统一的组成成分,使试验结果更具有可比性<sup>[23]</sup>。因此,以人工土壤法测定的 $LC_{50}$ 值作为划分农药对蚯蚓毒性等级的标准比滤纸法和自然土壤法更客观、准确,可为评价农药对蚯蚓的毒性提供较为准确的信息。

本研究进行的测定结果表明,不同类型的农药对蚯蚓的急性毒性存在较大差异,而且同一类型的不同农药品种对蚯蚓的急性毒性也存在较大差异。根据目前农药对蚯蚓急性毒性等级的划分标准,新烟碱类药剂的吡虫啉、啶虫脒和烯啶虫胺对蚯蚓的毒性属于中毒级,氯噻啉、噻虫啉和噻虫嗪则属于低毒级,但噻虫嗪对蚯蚓的毒性极低。啶虫脒对蚯蚓的急性毒性至少是噻虫嗪的800倍(14 d结果)。阿维菌素类药剂对蚯蚓的急性毒性都属于低毒级,但阿维菌素对蚯蚓的急性毒性是甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的6.3倍(14 d结果)。无论是滤纸法还是人工土壤法,新烟碱类(除噻虫嗪外)和阿维菌素类药剂对蚯蚓都表现出一定的急性毒性效应。总体来看,新烟碱类药剂(除噻虫嗪外)对蚯蚓的急性毒性效应高于阿维菌素类药剂,而且两种测定方法测定的农药对蚯蚓的毒性次序基本一致。不同农药对蚯蚓毒性的差异,可能是由于其化学结构、在环境中的行为和生物可利用性不同,从而导致蚯蚓吸收机制不同而引起的<sup>[24]</sup>。新烟碱类药剂是一类高效广谱的内吸性杀虫剂,兼具触杀和胃毒作用,其作用靶标是烟酸乙酰胆碱受体(nAChR),干扰神经的正常传导,作用迅速、持效期长<sup>[12]</sup>;而阿维菌素类药剂具有触杀和胃毒作用,其作用靶标是 $\gamma$ -氨基丁酸受体(GABAR),对神经传导产生抑制作用,在土壤中被吸附后受微生物作用而分解,无积累作用<sup>[13]</sup>。噻虫嗪与其他新烟碱类药剂对蚯蚓的急性毒性差异极大,其原因有待于深入研究。

孔志明等<sup>[25]</sup>采用滤纸法和人工土壤法测定的吡虫啉对赤子爱胜蚯蚓的 $LC_{50}$ 值分别为0.034(0.02~0.056) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (48 h结果)和2.30(1.79~2.96)mg·kg<sup>-1</sup>(14 d结果),而本研究采用滤纸法和人工土壤法测定的吡虫啉对赤子爱胜蚯蚓的 $LC_{50}$ 值分别为0.028(0.023~0.033) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (48 h结果)和2.81(2.65~3.04)mg·kg<sup>-1</sup>(14 d结果)。两个试验结果采用同种方法测得的吡虫啉对赤子爱胜蚯蚓的 $LC_{50}$ 值95%置信限均重叠,说明本研究结果吡虫啉对蚯蚓的急性毒性与孔志明等的研究结果是一致的。

在实际土壤环境中一般都会存在多种污染物,如农药、重金属和多环芳烃等,不同污染物之间往往具

有复杂的相互作用,影响彼此的吸收、分布、代谢转化与毒性效应,形成复合污染效应,如协同作用、相加作用、独立作用和拮抗作用等<sup>[26]</sup>。因此,研究农药与其他污染物的复合污染对蚯蚓的影响,对于评价土壤环境健康更具有重要意义。尽管农药与其他污染物的复合污染对蚯蚓影响的研究已有文献报道,但还处于起步阶段,而且对农药复合污染的致毒机理尚不清楚<sup>[27-28]</sup>。本文仅研究了单一农药对蚯蚓的急性毒性效应,由于实际环境中复合污染较为普遍,农药与其他污染物的复合污染及其致毒机理对蚯蚓的联合作用有待于进一步研究。

新烟碱类和阿维菌素类药剂对蚯蚓的急性毒性为低毒级-中毒级,但并不能忽略它们对蚯蚓可能的慢性毒性和对环境的影响,而且还未见报道这些农药对蚯蚓的分子毒理学效应。农药的亚致死效应如对蚯蚓行为、生长、繁殖和组织结构等的影响更接近于实际生态系统中低剂量农药对蚯蚓的长期毒性效应<sup>[29-30]</sup>,目前,在这方面的研究较少。应加强农药对蚯蚓的亚致死效应和分子毒理学研究,为全面评价农药对蚯蚓的生态风险提供基础数据。

#### 4 结论

滤纸法和人工土壤法测定结果表明新烟碱类和阿维菌素类药剂对蚯蚓都表现出一定的急性毒性效应(除噻虫嗪外),但新烟碱类药剂(除噻虫嗪外)对蚯蚓的急性毒性效应高于阿维菌素类药剂。噻虫嗪对蚯蚓的急性毒性效应不明显,且与其他的新烟碱类药剂对蚯蚓的急性毒性效应差异明显。根据《化学农药环境安全评价试验准则》,吡虫啉、啶虫脒和烯啶虫胺对蚯蚓属于中毒级,其他的药剂对蚯蚓属于低毒级。

#### 参考文献:

- [1] Cortez J, Bouché M. Decomposition of mediterranean leaf litters by *Nicodrilus meridionalis* (Lumbricidae) in laboratory and field experiments[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(15):2023-2035.
- [2] Chang L W, Meier J R, Smith M K. Application of plant and earthworm bioassays to evaluate remediation of a lead contaminated soil[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1997, 32(2):166 - 171.
- [3] 郭永灿,王振中,赖勤,等.农药污染对蚯蚓的群落结构与超微结构影响的研究[J].中国环境科学,1997,17(1):67-71.  
Guo Y C, Wang Z Z, Lai Q, et al. Effects of pesticide pollution on community structure and cell ultrastructure of earthworm[J]. *China Environmental Science*, 1997, 17(1):67-71.
- [4] 高敏苓,戴树桂,张平.绿麦隆、阿特拉津单一与复合污染对蚯蚓的毒性效应研究[J].生态环境,2006,15(3):525-528.  
Gao M L, Dai S G, Zhang P. Single and binary -combined toxicity of chloroturon and atrazine on earthworm[J]. *Ecology and Environment*, 2006, 15(3):525-528.
- [5] 周启星,孔繁翔,朱琳.生态毒理学[M].北京:科学出版社,2006: 353-397.  
Zhou Q X, Kang F X, Zhu L. *Ecotoxicology: Principles and Methods*[M]. Beijing: Science Press. 2006: 353-397.
- [6] Bouwman H, Reinecke A J. Effects of carbofuran on the earthworm, *Eisenia fetida*, using a defined medium[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1987, 38(1):171-178.
- [7] Reinecke S A, Reinecke A J. Biomarker response and biomass change of earthworms exposed to chlorpyrifos in microcosms[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 66(1):92-101.
- [8] 史雅娟,吕永龙,王昕,等.林丹和呋喃丹对赤子爱胜蚯蚓存活、生长和繁殖能力的影响[J].生态毒理学报,2009,4(1):101-107.  
Shi Y J, Lv Y L, Wang X, et al. Effects of lindane and carbofuran on mortality, growth, and reproduction of earthworm (*Eisenia foetida*) [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2009, 4(1):101-107.
- [9] De Silva P M C S, Pathiratne A, van Gestel C A M. Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavatus*[J]. *Applied Soil Ecology*, 2010, 44(1):56-60.
- [10] 左海根,林玉锁,龚瑞忠.呋喃丹、杀虫双对蚯蚓(*Eisenia foetida*)的单一和复合毒性[J].农村生态环境,2005,21(1):69-71.  
Zuo H G, Lin Y S, Gong R Z. Single and combined toxicity of carbofuran and bisulfito to earthworms[J]. *Rural Eco-Environment*, 2005, 21 (1):69-71.
- [11] 张壬午,李治祥,白清云,等.应用标准方法测定农药对蚯蚓的毒性[J].环境科学学报,1985,5(3):327-334.  
Zhang R W, Li Z X, Bai Q Y, et al. Application of a standardized method for determining acute toxicity of some pesticides in earthworms (*Eisenia foetida*) [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1985, 5(3):327-334.
- [12] Elbert A, Springer M H B, Thielert W, et al. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection[J]. *Pest Management Science*, 2008, 64 (11):1099-1105.
- [13] Ishaaya I, Gurevitz E, Ascher K R S. Synthetic pyrethroids and avermectin for controlling the grapevine pests *Lobesia botrana*, *Cryptophabes gridiella* and *Drosophila melanogaster*[J]. *Phytoparasitica*, 1983, 11(3-4):161-166.
- [14] OECD. *OECD Guideline for Testing of Chemicals, No. 207: Earthworm Acute Toxicity Tests*[S]. Paris: OECD. 1984
- [15] Amaud C, Saint-Denis M, Narbonne J F, et al. Influences of different standardised test methods on biochemical responses in the earthworm *Eisenia fetida andrei*[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(1): 67-73.
- [16] 张壬午,李治祥,白清云,等.化学农药对生态环境安全评价研究.Ⅱ化学农药对蚯蚓的毒性与评价[J].农村生态环境,1986,2(2): 14-18.  
Zhang R W, Li Z X, Bai Q Y, et al. Study on the eco-environmental evaluation of chemical pesticide[J]. *Rural Eco-Environment*, 1986, 2 (2):14-18.

- (2):14-18.
- [17] 徐冬梅, 许晓路, 刘文丽, 等. 异丙甲草胺及其S型对映体对蚯蚓的急性毒性差异[J]. 中国环境科学, 2009, 29(9):1000-1004.  
Xu D M, Xu X L, Liu W L, et al. Acute toxicity difference of metolachlor and its S-isomer on earthworm[J]. *China Environmental Science*, 2009, 29(9):1000-1004.
- [18] 龚鹏博, 李健雄, 郭明昉. 蚯蚓生态毒理试验现状与发展趋势[J]. 生态学杂志, 2007, 26(8):1297-1302.  
Gong P B, Li J X, Guo M F, et al. Present status and development trend of earthworm eco-toxicological test[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2007, 26(8):1297-1302.
- [19] Roberts B L, Drough H W. Relative toxicities of chemicals to the earthworm *Eisenia foetida*[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1984, 3(1):67-78.
- [20] Heimbach F. Correlations between three methods for determining the toxicity of chemicals to earthworms[J]. *Pesticide Science*, 1984, 15(6):605-611.
- [21] Davies N A, Hodson M E, Black S. The influence of time on lead toxicity and bioaccumulation determined by the OECD earthworm toxicity test[J]. *Environmental Pollution*, 2003, 121(1):55-61.
- [22] De Silva P M C S, van Gestel C A M. Comparative sensitivity of *Eisenia andrei* and *Perionyx excavatus* in earthworm avoidance tests using two soil types in the tropics[J]. *Chemosphere*, 2009, 77(11):1609-1613.
- [23] Ma W C, Bodt J. Differences in toxicity of the insecticide chlorpyrifos to six species of earthworms (*Oligochaeta, Lumbricidae*) in standardized soil tests[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1993, 50(6):864-870.
- [24] Callahan C A, Skirazi M A, Neuhauser E F. Comparative toxicity of chemicals to earthworms[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1994, 13(2):291-298.
- [25] 孔志明, 沢 宇, 崔玉霞, 等. 两种新型杀虫剂在不同暴露系统对蚯蚓的急性毒性[J]. 生态学杂志, 1999, 18(6):20-23.  
Kong Z M, Zang Y, Cui Y X, et al. The acute toxicity of two new types of pesticides to earthworms through different exposure systems[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 1999, 18(6):20-23.
- [26] 孔繁翔. 环境生物学[M]. 北京:高等教育出版社, 2000, 92-93.  
Kong F X. Environmental biology[M]. Beijing:Higher Education Press, 2000:92-93.
- [27] 梁继东, 周启星. 甲胺磷、乙草胺和铜单一与复合污染对蚯蚓的毒性效应研究[J]. 应用生态学报, 2003, 14(4):593-596.  
Liang J D, Zhou Q X. Single and binary-combined toxicity of methamidophos, acetochlor and Cu on earthworm *Eisenia foetida*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(4):593-596.
- [28] 余向阳, 王冬兰, 徐敦明, 等. 酰胺类除草剂与四种杀虫剂对蚯蚓的联合毒性[J]. 中国环境科学, 2006, 26(增刊):117-120.  
Yu X Y, Wang D L, Xu D M, et al. The joint toxicities of acetanilide herbicides and four kinds of insecticides on the earthworm[J]. *China Environmental Science*, 2006, 26(Suppl):117-120.
- [29] Gibbs M H, Wicker L F, Stewart A J. A method for assessing sublethal effects of contaminants in soils to the earthworm, *Eisenia foetida*[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1996, 15(3):360-368.
- [30] Luo Y, Zang Y, Zhong Y, et al. Toxicological study of two novel pesticides on earthworm *Eisenia foetida*[J]. *Chemosphere*, 1999, 39(13):2347-2356.