

桑 松, 王培丹, 曹宇科, 等. 山坑螺和田螺作为指示生物监测茶园环境农药残留的研究[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(3): 58-62.

# 山坑螺和田螺作为指示生物监测茶园环境 农药残留的研究

桑 松, 王培丹, 曹宇科, 钟国华

(华南农业大学 资源环境学院/天然农药与化学生物学教育部重点实验室, 广东 广州 510642)

**摘要:**【目的】明确山坑螺 *Margarya melanioides* Nevill 和田螺 *Cipangopaludina chinensis* Gray 对茶叶种植常用农药的敏感性, 探究其作为指示生物监测茶园环境农药残留的可行性. 【方法】采用静水生物毒性试验法测定 6 种茶园常用农药对山坑螺和田螺的致死中浓度 ( $LC_{50}$ ), 分析比较山坑螺和田螺对供试农药的敏感程度. 【结果和结论】敌敌畏、甲氰菊酯、阿维菌素、毒死蜱、草铵膦以及噻虫嗪对山坑螺 48 h 的  $LC_{50}$  值分别为 0.031 6、0.005 2、0.104 0、0.048 6、14.417 1、54.635 9  $mg \cdot kg^{-1}$ , 对田螺 48 h 的  $LC_{50}$  值分别为 1.711 2、0.013 2、0.917 1、1.501 6、108.755 3、119.021 1  $mg \cdot kg^{-1}$ , 山坑螺对该 6 种农药的敏感程度分别是田螺的 54.15、2.54、8.82、30.90、7.54 和 2.18 倍. 山坑螺比田螺对 6 种供试农药尤其是有机磷类农药(敌敌畏和毒死蜱)更加敏感, 山坑螺对甲氰菊酯、敌敌畏和毒死蜱 48 h 的  $LC_{50}$  值远低于我国以及欧盟规定的茶叶中最大残留限量值, 具有作为茶园环境中有机磷类和拟除虫菊酯类农药残留监测指示生物的潜力.

**关键词:** 山坑螺; 田螺; 农药残留; 生物监测; 指示生物

中图分类号: S336

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2014)03-0058-05

## A study on *Margarya melanioides* and *Cipangopaludina chinensis* as the indicator organisms to monitor pesticide residues in a tea garden environment

SANG Song, WANG Peidan, CAO Yuke, ZHONG Guohua

(College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University/

Key Laboratory of Natural Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education of China, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** 【Objective】To determine the sensitivity of *Margarya melanioides* and *Cipangopaludina chinensis* to pesticides used commonly in tea cultivation to explore the feasibility of *Margarya melanioides* and *Cipangopaludina chinensis* as the organisms to monitor pesticide residues in a tea garden. 【Method】The lethal concentration 50 ( $LC_{50}$ ) values of five insecticides and one herbicide to *M. melanioides* and *C. chinensis* were determined by static bioassay tests respectively. 【Result and conclusion】The  $LC_{50}$  values of dichlorvos, fenprothrin, abamectin, chlorpyrifos, glufosinate-ammonium and thiamethoxam to *M. melanioides* were 0.031 6, 0.005 2, 0.104 0, 0.048 6, 14.417 1, 54.635 9  $mg \cdot kg^{-1}$  respectively, and to *C. chinensis* were 1.711 2, 0.013 2, 0.917 1, 1.501 6, 108.755 3, 119.021 1  $mg \cdot kg^{-1}$  respectively after 48 h treatment, which indicated that the sensitivity of *M. melanioides* to these pesticides were 54.15, 2.54, 8.82, 30.90, 7.54 and 2.18 times over *C. chinensis*, respectively. *M. melanioides*

收稿日期: 2013-10-04 优先出版时间: 2014-03-31

优先出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7671/j.issn.1001-411X.2014.03.011.html>

作者简介: 桑 松 (1988—), 男, 硕士研究生, E-mail: sangsong13@163.com; 通信作者: 钟国华 (1973—), 男, 教授, 博士, E-mail: guohuazhong@scau.edu.cn

基金项目: 广东省科技计划项目 (2012A020100009)

<http://xuebao.scau.edu.cn>

was more sensitive than *C. chinensis* to these six pesticides, especially to organophosphorus (dichlorvos and chlorpyrifos). The  $LC_{50}$  values of dichlorvos, chlorpyrifos and fenprothrin were far below the maximum residue limit (MRL), which indicated that the tested *M. melanioides* might have the potential to be the indicator organism to monitor pyrethroids and organophosphorus insecticide residues in tea garden.

**Key words:** *Margarya melanioides*; *Cipangopaludina chinensis*; pesticide residue; biological monitor; indicator organism

我国是茶叶生产和出口大国,年出口量稳居世界第二.在全球气候变化、人类活动等因素作用下,茶叶生产过程中病虫草害增多,农药使用有增无减,茶叶农药残留超标已经成为我国茶叶生产遇到的最大问题之一<sup>[1]</sup>.目前茶叶农药残留的检测方法很多,如色谱分析法、生物传感器法、免疫分析法、分子印迹技术等<sup>[2]</sup>,但这些检测方法是针对产品的检测,属于事后而非过程监测,且多数方法离不开贵重的仪器,操作较复杂.生产环境中施用于作物或种植地的农药,大部分最终残留在种植地的水体和土壤中,水体环境中的农药残留状况在一定程度上反映了生产过程中使用农药的种类、数量或频率.

生物监测技术诞生于20世纪初,它利用生物个体、种群和群落的数量、性质、健康状况、生理特性等变化来表征环境质量的变化,阐明环境污染状况,从生物学角度为环境质量监测和评价提供依据<sup>[3]</sup>.螺是水生生态系统中的重要食物链环节,已应用于监测底泥重金属污染<sup>[4-5]</sup>,但有关农药对淡水螺类的影响<sup>[6-7]</sup>以及将螺作为指示生物对环境农药残留进行监测还鲜见报道.在实践调查和前期筛选的基础上,本研究选择茶园溪水中山坑螺 *Margarya melanioides* Nevill 和田螺 *Cipangopaludina chinensis* Gray 作为试验材料,研究茶叶生产实践中公众关注度高、重点监测的代表性农药对山坑螺和田螺的敏感性,旨在筛选能够用于监测茶园环境农药残留、更加直观反映茶园环境质量的敏感指示生物.

## 1 材料与方法

### 1.1 主要药剂与供试材料

1.8% (w)阿维菌素乳油,浙江威尔达化工有限公司生产;25.0% (w)噻虫嗪水分散剂,安徽众邦生物工程有限公司生产;77.5% (w)敌敌畏乳油,湖北沙隆达股份有限公司生产;200 g · L<sup>-1</sup>草铵膦水剂,广东新景象生物工程有限公司生产;92.0% (w)甲氰菊酯原药、94.0% (w)毒死蜱原药,均由南京红太阳股份有限公司提供.

山坑螺 *Margarya melanioides* Nevill 采集于广东省乳源县某茶园山溪中,体长为20~25 mm.田螺 *Cipangopaludina chinensis* Gray 从广东省乳源县某农贸市场购买,体长为25~30 mm.

### 1.2 试验方法

采用静水生物毒性试验法<sup>[8]</sup>.先按适当比例由低浓度到高浓度进行24 h预试验,由预试验结果确定各药剂对供试螺致死率10%~90%的浓度范围.正式试验分别设置敌敌畏、阿维菌素、毒死蜱、草铵膦、噻虫嗪各5个质量浓度组,甲氰菊酯6个质量浓度组,丙酮-水溶液对照组(丙酮含量与处理组相同)和1个空白对照组(完全为清水,未加丙酮),每组设3次重复,每个重复20个螺.将各组配制好的药液置于同一规格的塑料箱(长×宽×高为25 cm×15 cm×20 cm),每个塑料箱中加入采自山坑螺原来生活环境的溪水3 L、砂石500 g左右、适量水草,然后再加入20个山坑螺或田螺,试验时水温维持在22~27℃并保持12 h光照,试验期间不换液.试验开始后8 h内连续观察,及时取出死亡螺,每隔24 h观察记录螺的死亡个数,参考 Santos 等<sup>[9]</sup>的方法判断螺死亡与否.

### 1.3 数据处理及分析

按照 Abbott 公式计算死亡率和校正死亡率,采用 DPS v7.05 统计软件计算毒力回归方程、致死中浓度(Median lethal concentration 50,  $LC_{50}$ )及95%置信区间.

## 2 结果与分析

### 2.1 田螺对6种农药的敏感性

静水生物毒性试验法的测定结果如表1和表2所示.由表1可知,供试田螺对拟除虫菊酯类农药最敏感,处理后48 h对甲氰菊酯的  $LC_{50}$  仅0.0132 mg · kg<sup>-1</sup>(有效成分浓度);对有机磷类农药敌敌畏、毒死蜱以及抗生素类农药阿维菌素的敏感性稍差,  $LC_{50}$  值分别为1.711 2、1.501 6和0.917 1 mg · kg<sup>-1</sup>;对新烟碱类的噻虫嗪以及除草剂草铵膦均不敏感,

LC<sub>50</sub>值分别为119.021 1和108.755 3 mg·kg<sup>-1</sup>.处理后96 h,敌敌畏、甲氰菊酯、阿维菌素、毒死蜱、草铵膦和噻虫嗪对田螺的LC<sub>50</sub>值分别为1.038 7、0.006 9、0.295 3、0.752 8、58.966 5、82.919 7 mg·kg<sup>-1</sup>(表2),与48 h的LC<sub>50</sub>值相比差异不大,各药剂的毒力

强度次序与48 h均一致.将这些结果与我国<sup>[10]</sup>和欧盟<sup>[11]</sup>规定的茶叶中农药最大残留限量(Maximum residue limit, MRL)值相比较可知,供试田螺仅对拟除虫菊酯类农药比较敏感,而对其它5种农药的LC<sub>50</sub>值远高于我国以及欧盟规定的茶叶中MRL.

表1 处理48 h田螺对6种农药的敏感性

Tab.1 The sensitivity of *Cipangopaludina chinensis* to six pesticides after 48 h treatment

农药	毒力回归方程	LC <sub>50</sub> /(mg·kg <sup>-1</sup> )	95%置信限/(mg·kg <sup>-1</sup> )	相关系数
敌敌畏	$y = 4.8223 + 0.7616x$	1.711 2	0.740 9 ~ 3.952 1	0.982 2
甲氰菊酯	$y = 6.8457 + 0.9819x$	0.013 2	0.008 3 ~ 0.021 0	0.989 0
阿维菌素	$y = 5.0237 + 0.6316x$	0.917 1	0.333 5 ~ 2.522 1	0.966 4
毒死蜱	$y = 4.8520 + 0.8380x$	1.501 6	0.627 2 ~ 3.595 3	0.979 6
草铵膦	$y = 3.6796 + 0.6484x$	108.755 3	67.704 5 ~ 174.696 0	0.996 1
噻虫嗪	$y = 3.6820 + 0.6350x$	119.021 1	80.365 0 ~ 176.271 1	0.997 4

表2 处理96 h田螺对6种农药的敏感性

Tab.2 The sensitivity of *Cipangopaludina chinensis* to six pesticides after 96 h treatment

农药	毒力回归方程	LC <sub>50</sub> /(mg·kg <sup>-1</sup> )	95%置信限/(mg·kg <sup>-1</sup> )	相关系数
敌敌畏	$y = 4.9863 + 0.8291x$	1.038 7	0.500 7 ~ 2.155 0	0.983 0
甲氰菊酯	$y = 6.9125 + 0.8837x$	0.006 9	0.004 5 ~ 0.010 3	0.993 6
阿维菌素	$y = 5.3948 + 0.7453x$	0.295 3	0.207 8 ~ 0.419 6	0.992 8
毒死蜱	$y = 5.1128 + 0.9152x$	0.752 8	0.228 6 ~ 2.479 1	0.950 1
草铵膦	$y = 4.0134 + 0.5572x$	58.966 5	25.070 5 ~ 138.690 9	0.983 8
噻虫嗪	$y = 3.6848 + 0.6855x$	82.919 7	32.558 7 ~ 211.178 0	0.983 2

## 2.2 山坑螺对6种农药的敏感性

表3和4总结了山坑螺对6种农药的敏感性测定结果.山坑螺对有机磷类的敌敌畏、毒死蜱以及拟除虫菊酯类的甲氰菊酯非常敏感,处理后48 h的LC<sub>50</sub>值分别为0.031 6、0.048 6和0.005 2 mg·kg<sup>-1</sup>,远低于欧盟所规定的MRL值0.1、0.1和2 mg·kg<sup>-1</sup>;对阿维菌素也有较高的敏感性,48 h的LC<sub>50</sub>为0.104 0 mg·kg<sup>-1</sup>,但是高于欧盟规定的茶叶中MRL(0.02 mg·kg<sup>-1</sup>);对噻虫嗪以及草铵膦的敏感性稍差,48

h的LC<sub>50</sub>值分别为54.635 8和14.417 1 mg·kg<sup>-1</sup>.处理后96 h,山坑螺对敌敌畏、甲氰菊酯、阿维菌素、毒死蜱、草铵膦和噻虫嗪LC<sub>50</sub>值分别为0.021 9、0.002 3、0.017 0、0.022 6、7.833 1、26.102 9 mg·kg<sup>-1</sup>(表4),其中阿维菌素对山坑螺96 h的LC<sub>50</sub>值接近于欧盟所规定的MRL值(0.02 mg·kg<sup>-1</sup>).因此,山坑螺对有机磷类、拟除虫菊酯类农药具有非常高的敏感性,可考虑用于监测茶叶种植环境中的这2类农药的残留.

表3 处理48 h山坑螺对6种农药的敏感性

Tab.3 The sensitivity of *Margarya melanioides* to six pesticides after 48 h treatment

农药	毒力回归方程	LC <sub>50</sub> /(mg·kg <sup>-1</sup> )	95%置信限/(mg·kg <sup>-1</sup> )	相关系数
敌敌畏	$y = 6.4894 + 0.9926x$	0.031 6	0.013 5 ~ 0.074 1	0.946 7
甲氰菊酯	$y = 7.1549 + 0.9436x$	0.005 2	0.003 8 ~ 0.007 1	0.996 9
阿维菌素	$y = 5.5311 + 0.5403x$	0.104 0	0.056 9 ~ 0.190 1	0.970 3
毒死蜱	$y = 6.1844 + 0.9020x$	0.048 6	0.030 6 ~ 0.077 2	0.981 8
草铵膦	$y = 4.1790 + 0.7103x$	14.417 1	5.407 4 ~ 37.907 5	0.959 9
噻虫嗪	$y = 3.7790 + 0.7027x$	54.635 9	44.208 8 ~ 67.531 5	0.998 9

表4 处理96 h 山坑螺对6种农药的敏感性

Tab.4 The sensitivity of *Margarya melanioides* to six pesticides after 96 h treatment

农药	毒力回归方程	LC <sub>50</sub> /(mg·kg <sup>-1</sup> )	95% 置信限/(mg·kg <sup>-1</sup> )	相关系数
敌敌畏	$y = 6.9687 + 1.1866x$	0.0219	0.0097 ~ 0.0494	0.9568
甲氰菊酯	$y = 7.1278 + 0.8070x$	0.0023	0.0012 ~ 0.0045	0.9899
阿维菌素	$y = 6.7031 + 0.9617x$	0.0170	0.0061 ~ 0.0471	0.9398
毒死蜱	$y = 6.7855 + 1.0854x$	0.0226	0.0123 ~ 0.0415	0.9749
草铵膦	$y = 4.3607 + 0.7151x$	7.8331	5.1764 ~ 11.8535	0.9895
噻虫嗪	$y = 4.0343 + 0.6817x$	26.1029	20.8319 ~ 32.7075	0.9927

### 2.3 田螺和山坑螺对6种农药的敏感性差异

通过比较处理后48和96 h 山坑螺和田螺的LC<sub>50</sub>值可知,山坑螺比田螺对6种供试农药更加敏感.处理后48 h 敌敌畏、甲氰菊酯、阿维菌素、毒死蜱、草铵膦及噻虫嗪对田螺的LC<sub>50</sub>值分别是山坑螺的54.15、2.54、8.82、30.90、7.54和2.18倍,处理后96 h 分别是47.13、3.00、17.37、33.31、7.53和3.18倍(图1),尤其是两者对有机磷类农药(敌敌畏和毒死蜱)的敏感性相差巨大,对阿维菌素和草铵膦的敏感性差异也较大,说明山坑螺对这些农药的残留比田螺更加敏感.两者对甲氰菊酯和噻虫嗪的敏感性差异较小,而对甲氰菊酯LC<sub>50</sub>的值都较小,对噻虫嗪LC<sub>50</sub>的值都较大,说明山坑螺和田螺对甲氰菊酯都很敏感,而对噻虫嗪均不敏感.整体上来看,山坑螺比田螺显示出更优异的作为农药残留监测指示生物的潜力.

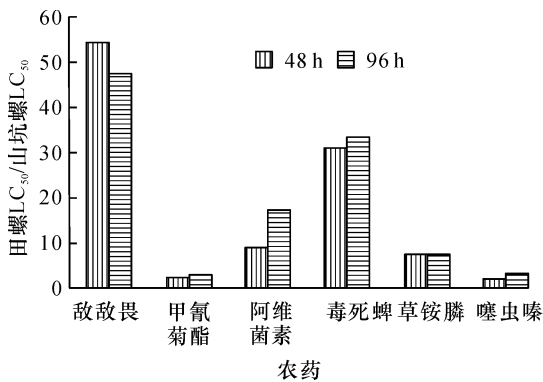


图1 田螺和山坑螺对6种农药的敏感性差异

Fig.1 The sensitivity differences between *Cipangopaludina chinensis* and *Margarya melanioides* to six pesticides

### 3 讨论与结论

指示生物法监测环境污染具有“直观、经济、快速、灵敏”的优势和特点,这在国内外的重金属以及农药残留污染研究和实践中已有不少探索.国内外学者已将贻贝和牡蛎作为指示生物监测海洋中的

镉、铅、汞以及丁基锡的污染,通过测定体内污染物的含量、种类和机体的生理生化反应来评价水体的污染状况<sup>[12-13]</sup>.两栖动物类中的楔头蛙 *Rana sphenoccephala*<sup>[14]</sup>、饰纹姬蛙 *Microhyla arnata*<sup>[15]</sup>和豹蛙 *Rana pipiens*<sup>[16]</sup>也分别被作为指示生物对西维因、杀螟硫磷以及百草枯残留进行监测,通过敏感物种对农药的异常反应(畸形、行为异常、死亡率提高等)来判断农药残留的污染情况.本研究结果表明所试山坑螺对有机磷类农药和拟除虫菊酯类农药非常敏感,48 h 的LC<sub>50</sub>值远低于我国以及欧盟所规定的茶叶中的MRL,可用于茶叶种植园这两类杀虫剂残留的现场监测;对阿维菌素也有较高的敏感性,96 h 的LC<sub>50</sub>值接近于欧盟所规定的MRL值;对噻虫嗪以及草铵膦敏感性稍差,可适当调整监测标准如采用LC<sub>5</sub>或LC<sub>10</sub>的剂量进行监测.山坑螺对茶叶生产中重点监测的农药比较敏感,可考虑用于茶园环境农药残留监测.

一般认为生物监测的准确性取决于敏感生物的敏感性,敏感性越高,结果越准确可靠<sup>[17]</sup>.田螺一般生活在淡水水草茂盛的湖泊、水库、沟渠、池塘内,主要食植物嫩茎叶、腐屑生物等,耐污性强;而山坑螺对水质要求较高,只能生长于水流清澈、没有污染的山间流动溪水中,已有报道认为该螺对除草剂丁草胺和丁苄混剂残留浓度较敏感<sup>[7]</sup>.本研究结果表明,敌敌畏、甲氰菊酯、阿维菌素、毒死蜱、草铵膦以及噻虫嗪对田螺48 h 的LC<sub>50</sub>值分别是山坑螺的54.15、2.54、8.82、30.90、7.54和2.18倍,尤其是两者对有机磷类农药(敌敌畏和毒死蜱)的敏感性相差巨大,山坑螺比田螺显示出更优异的作为农药残留监测指示生物的潜力,山坑螺比田螺更适合用于茶园环境农药残留监测.

山坑螺用于茶园环境农药残留监测仍需进一步深入研究.利用敏感指示生物监测农药残留是否超标不能定量,也不具有特异性,只能定性地检出茶园水体中农药是否超标,但不能确定残留为何种农药以及残留量.从本研究的结果看,只要茶园水体中残

留有少量的有机磷和拟除虫菊酯类杀虫剂,水体中的山坑螺就会大量死亡,可指示茶园中这2类杀虫剂可能超标.在生产实践中可在每个茶园中的水体中取适量的水,放入一定量的山坑螺,48 h后检查螺的死亡情况,以监测农药残留是否超标.用山坑螺监测茶园环境农药残留原料便宜、方法简单、耗时较短,该方法的推广可以提高茶农对茶园农药残留监测的主动性,对于保障茶叶产品的安全具有一定的积极意义.

#### 参考文献:

- [1] 马惠民,王永强,钱和.国内外茶叶农药残留限量标准的比较分析[J].中国茶叶加工,2012,11(4):18-22.
- [2] 李军明,钟读波,王亚琴,等.茶叶中农药残留限量及检测方法研究进展[J].云南大学学报:自然科学版,2010,32(S1):299-304.
- [3] 程英,裴宗平,邓霞,等.生物监测在水环境中的应用及存在问题探讨[J].环境科学与管理,2008,32(2):111-114.
- [4] 郭明新,林玉环.用中华圆田螺作为底泥重金属毒性和生物可给性的指示生物[J].环境与开发,1997,12(2):8-11.
- [5] 吴春红,薛晶,杨建明,等.用钉螺作为指示生物监测其孳生地重金属污染状况[J].湖北大学学报:自然科学版,2007,29(1):96-98.
- [6] 王锡珍,陆宏达.阿维菌素对几种淡水水生动物的急性毒性作用[J].环境与健康杂志,2009,26(7):593-597.
- [7] 赵兰,骆世明,黎华寿,等.不同浓度下四种除草剂对福寿螺和坑螺的生态毒理效应[J].生态学报,2011,31(19):5720-5727.
- [8] 赵朝阳,周鑫,华雪铭.河蟹生态育苗池中敌害生物龙虱幼虫的药物杀除[J].中国农学通报,2011,27(5):425-429.
- [9] SANTOS J A, TOMASSINI C B, XAVIER D C D. Molluscicidal activity of *Physalis angulata* L. extracts and fractions on *Biomphalaria tenagophila* (d'orbigny, 1835) under laboratory conditions[J]. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 2003, 98(3): 425-428.
- [10] 中华人民共和国卫生部,中华人民共和国农业部. GB2763-2012 食品中农药最大残留限量[M].北京:中国农业出版社,2013.
- [11] European commission. The commission of the European communities: Commission regulation (EC) No 149/2008 [R]. Brussels: Official Journal of the European Union, 2008.
- [12] KHALED F N, DANIEL C, GHABY K, et al. *Brachidontes variabilis* and *Patella* sp. as quantitative biological indicators for cadmium, lead and mercury in the Lebanese coastal waters[J]. Environ Pollut, 2006, 142(1): 73-82.
- [13] 杨小玲,杨瑞强,江桂斌.用贻贝、牡蛎作为生物指示物监测渤海沿岸水体中的丁基锡污染物[J].环境化学,2006,25(1):88-91.
- [14] BRIDGES C M. Long-term effects of pesticide exposure at various of the southern leopard frog (*Rana sphenoccephala*) [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2000, 39(1): 91-96.
- [15] Pawar K R, Katdare M. Toxic and teratogenic effects of fenitrothion, BHC and carbofuran on embryonic development of the frog *Microhyla ornata* [J]. Toxicol Lett, 1984, 22(1): 7-13.
- [16] BAUER DIAL C A, DIAL N A. Lethal effects of the consumption of field levels of paraquat-contaminated plants on *Frog tadpoles* [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1995, 55(6): 870-877.
- [17] 董向丽,高晓明,邢小霞,等.敏感指示菌用于农药残留检测初探[J].莱阳农学院学报:自然科学版,2006,23(4):323-325.

【责任编辑 霍 欢】