

◆ 残留与环境 ◆

5种农药对花翅摇蚊的毒性研究

王宏伟^{1,2,3}, 宋伟华^{1,2}, 邵苗苗^{1,2,3}, 袁善奎^{1,2*}, 侯玉霞^{3*}

(1. 农业农村部农药检定所, 北京 100125; 2. 农业农村部农药评价重点实验室, 北京 100125; 3. 中国农业大学理学院, 北京 100193)

摘要:通过研究5种农药对底栖生物摇蚊的急性毒性和慢性毒性,以评价不同类型农药对底栖生物摇蚊的毒性风险。试验结果表明:5种农药对花翅摇蚊(*Chironomus kiiensis*)均具有明显的毒性效应。以急性毒性试验48 h的 EC_{50} 为评判依据,毒性大小顺序为高效氯氟氰菊酯>啉虫脒>吡丙醚>吡啶醚菌酯>丁草胺;以慢性毒性试验抑制羽化率的 EC_{50} 为评判依据,毒性大小顺序为高效氯氟氰菊酯>吡丙醚>啉虫脒>吡啶醚菌酯>丁草胺。随着处理组农药浓度的升高,花翅摇蚊的化蛹率和羽化率明显降低,幼虫期和蛹期延长;慢性毒性试验中,吡啶醚菌酯和丁草胺对花翅摇蚊的化蛹 EC_{50} 和羽化 EC_{50} 基本无差异,高效氯氟氰菊酯、啉虫脒和吡丙醚对花翅摇蚊的化蛹 EC_{50} 略大于其羽化 EC_{50} ,但均差异不显著。

关键词:花翅摇蚊;农药;毒性;化蛹;羽化

中图分类号:TQ 450.2⁺6 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2024.02.011

Study on the toxicity of five pesticides to *Chironomus kiiensis*

WANG Hongwei^{1,2,3}, SONG Weihua^{1,2}, SHAO Miaomiao^{1,2,3}, YUAN Shankui^{1,2*}, HOU Yuxia^{3*}

(1. Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100125, China; 2. Key Laboratory of Pesticide Evaluation of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100125, China; 3. College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: The acute and chronic toxicities of five pesticides to *Chironomus kiiensis* were studied to evaluate the toxicity risks of different types of pesticides to benthic chironomid. The results showed that the five pesticides all had significant toxic effects on *C. kiiensis*. Based on the 48 h EC_{50} in the acute toxicity test, the toxicity on *C. kiiensis* followed the order of *lambda*-cyhalothrin, acetamiprid, pyriproxyfen, pyraclostrobin, and butachlor. Based on the emergence EC_{50} in the chronic toxicity test, the toxicity followed the order of *lambda*-cyhalothrin, pyriproxyfen, acetamiprid, pyraclostrobin, and butachlor. With the increase of pesticide concentration in the treatment group, the pupation rate and eclosion rate of *C. kiiensis* decreased significantly, and the larval and pupal stages were also prolonged. In the chronic toxicity test, there was no significant difference between the EC_{50} of pupation and that of eclosion for all of the 5 pesticides.

Key words: *Chironomus kiiensis*; pesticide; toxicity; pupation; eclosion

摇蚊(Chironomids)隶属于节肢动物门(Arthropoda)昆虫纲(Insecta)双翅目(Diptera)摇蚊科(Ceratopogonidae),是一种常见的水生昆虫,也被称作“不咬人的蚊子”^[1]。摇蚊在全球七大动物地理区

均有分布,是淡水水体中种类最多,分布最广,密度和生物量最大的底栖生物类群^[2]。目前,全球已记载的摇蚊种类超过6 000种,归为11个亚科,约400属,中国范围内已记录描述的摇蚊种类近1 000种^[3-4]。摇

收稿日期:2023-08-25

作者简介:王宏伟(1998—),男,河南安阳人,硕士研究生,主要研究方向为农药生态毒理学。E-mail:wei1449481276@163.com

通信作者:袁善奎(1976—),男,湖北利川人,博士,研究员,主要从事农药环境风险评估与管理工。E-mail:skyyuan76@sina.com

共同通信作者:侯玉霞(1963—),女,银川人,博士,教授,主要研究方向为农药毒理与生物技术。E-mail:hoyuxia@cau.edu.cn

蚊幼虫因具有对不同污染物敏感,生命周期短,易于室内培养且培养成本低等诸多优势,常被用作水质监测的模式生物^[5]。

本试验以我国南方优势种花翅摇蚊为受试生物,研究了5种不同类型常见农药对摇蚊幼虫的急性毒性和慢性毒性,旨在探讨不同类型农药对底栖生物摇蚊的毒性风险,为今后在我国利用摇蚊开展农药环境安全评价提供参考和依据^[6]。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试农药

97%啉虫脒(acetamiprid)原药、96%吡丙醚(pyriproxyfen)原药、97%吡唑醚菌酯(pyraclostrobin)原药、94%丁草胺(butachlor)原药、96.5%高效氯氟氰菊酯(*lambda*-cyhalothrin)原药,均由山东省青岛奥迪斯生物科技有限公司提供。

1.1.2 供试生物

花翅摇蚊(*Chironomus kiiensis*)引种于北京市疾病预防控制中心,已在农业农村部农药检定所双桥基地驯养超过20代。试验前已使用氯化钾(KCl)

对花翅摇蚊进行参比试验,KCl处理24 h的EC₅₀为3.86 mg/L,95%置信区间为3.28~5.08 mg/L,满足OECD NO. 235^[7]的相关要求。

1.1.3 沉积物

参照OECD NO. 219^[8]中附件3配制慢性毒性试验中的沉积物,其中,石英砂干重占比75%,高岭石粘土(高岭石含量≥30%)干重占比20%,泥炭(颗粒尺寸≤1 mm)干重占比5%。再将均匀混合的沉积物按照质量比4:1的比例与蒸馏水混合,制成湿沉积物备用。

1.2 急性毒性试验

参照OECD NO. 235^[7]摇蚊急性毒性试验测定不同农药对摇蚊幼虫的急性毒性。根据预试验结果,分别设置各组的正式浓度(几何差控制在2.2倍以内),浓度设计见表1。将受试农药用曝气水配制成系列浓度梯度药液,以曝气水为空白对照。选取孵化2 d的1龄幼虫置于盛有药液的烧杯中,每个容器5头幼虫,设4个重复。试验期间不进行喂食,环境条件控制为温度24℃,光暗时间比16 h:8 h。在染毒后的24 h和48 h观察并统计幼虫存活情况,轻晃烧杯,15 s内无法改变姿势的幼虫视为活动抑制。

表 1 不同农药对花翅摇蚊 1 龄幼虫急性毒性试验浓度处理设计

浓度编号	质量浓度/(μg/L)				
	啉虫脒	吡丙醚	吡唑醚菌酯	丁草胺	高效氯氟氰菊酯
浓度1	10.0	20.0	100.0	1.00×10 ³	0.13
浓度2	13.0	32.0	150.0	1.35×10 ³	0.20
浓度3	16.9	51.2	230.0	1.82×10 ³	0.30
浓度4	22.0	81.9	340.0	2.46×10 ³	0.45
浓度5	28.6	131.0	510.0	3.32×10 ³	0.68
浓度6	37.1	210.0	760.0	4.49×10 ³	1.01

1.3 慢性毒性试验

参照OECD NO. 219^[8]水-沉积物摇蚊毒性试验(加标于水法),先在每个试验容器中加入250 g湿沉积物,后用软管沿容器壁缓慢加入700 mL蒸馏水,并根据农药的理化性质调节至合适pH。在加入受试摇蚊前,利用增氧泵进行7 d的柔和曝气,后选取1龄摇蚊幼虫(摇蚊卵孵化后2~3 d,体长约0.2 cm)加入试验容器中,每个处理20头,设4个重复。加入摇蚊幼虫24 h后取出相应量的上覆水,加入新配制的相应量药液,即形成试验所需农药浓度的水-沉积物系统(注意轻微吸出和加入,避免对底部沉积物和摇蚊幼虫造成干扰)。

各试验组的浓度设计见表2,试验期间控制环

境温度在(24±1)℃,湿度≥60%,光暗时间比16 h:8 h。间隔2 d喂食1次,每只幼虫每次饲喂量为0.5 mg,3龄期后可适当增加喂食量,注意保持良好的水质条件。摇蚊染毒当天记为药后0 d,之后每日固定时间观察摇蚊的生长发育情况,统计摇蚊羽化的个体数和性别,连续7 d没有新的摇蚊羽化视为试验终点。

1.4 数据处理

用SPSS22.0中概率回归法求各受试农药对摇蚊幼虫急性、慢性毒性试验的毒力回归方程,半数效应浓度EC₅₀,相关系数R²及95%置信区间;用SPSS22.0对慢性毒性试验中组间各指标进行单因素方差分析,数据用平均值±标准偏差表示,采用

Bonferroni方法分析组间显著性差异 ($P<0.05$); 运用SigmaPlot14.0软件作图。

表 2 不同农药对花翅摇蚊幼虫慢性毒性试验浓度处理设计

浓度编号	质量浓度/($\mu\text{g/L}$)				
	啶虫脒	吡丙醚	吡唑醚菌酯	丁草胺	高效氯氟氰菊酯
浓度 1	6.0	1.50	200.0	0.50×10^3	0.60
浓度 2	7.8	2.25	280.0	0.75×10^3	0.78
浓度 3	10.1	3.38	392.0	1.13×10^3	1.01
浓度 4	13.2	5.06	549.0	1.69×10^3	1.32
浓度 5	17.1	7.60	769.0	2.53×10^3	1.71
浓度 6		11.4		3.80×10^3	

2 结果与分析

2.1 5种农药对花翅摇蚊的急性毒性

5种农药对花翅摇蚊幼虫的急性毒性试验结果见表3。5种农药48 h的 EC_{50} 与24 h的 EC_{50} 差异倍数都在2倍左右,说明在半数抑制浓度效应下,各农药的染毒剂量对暴露时间的依赖程度无较大差异;处理

48 h后,啶虫脒、吡丙醚、吡唑醚菌酯、丁草胺和高效氯氟氰菊酯对摇蚊幼虫的 EC_{50} 分别为17.4 $\mu\text{g/L}$ 、58.2 $\mu\text{g/L}$ 、446 $\mu\text{g/L}$ 、 $2.87 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ 和0.3 $\mu\text{g/L}$ 。表明5种农药对花翅摇蚊均具有较高的生态毒性,其中,高效氯氟氰菊酯对花翅摇蚊1龄幼虫的 EC_{50} (48 h)与吡唑醚菌酯相差1 400多倍,与丁草胺相差9 500多倍,表明不同药剂间的毒性差异较大。

表 3 5 种农药对花翅摇蚊 1 龄幼虫的急性毒性

农药	时间/h	毒力回归方程	$EC_{50}/(\mu\text{g/L})$	95%置信区间/($\mu\text{g/L}$)	相关系数 R^2
啶虫脒	24	$y=-3.17+21.60x$	29.40	22.60~55.60	0.978
	48	$y=-4.55+3.69x$	17.40	14.50~20.40	0.946
吡丙醚	24	$y=-3.63+1.72x$	131.00	93.10~236.00	0.910
	48	$y=-2.28+1.23x$	58.20	41.90~79.40	0.975
吡唑醚菌酯	24	$y=-1.80+2.77x$	651.00	538.00~873.00	0.969
	48	$y=-1.41+3.14x$	446.00	366.00~554.00	0.966
丁草胺	24	$y=-1.85+0.47x$	3.98×10^3	$3.33 \times 10^3 \sim 5.40 \times 10^3$	0.933
	48	$y=-1.67+0.58x$	2.87×10^3	$2.44 \times 10^3 \sim 3.44 \times 10^3$	0.977
高效氯氟氰菊酯	24	$y=0.26+1.73x$	0.70	0.50~1.37	0.909
	48	$y=1.29+2.46x$	0.30	0.23~0.38	0.954

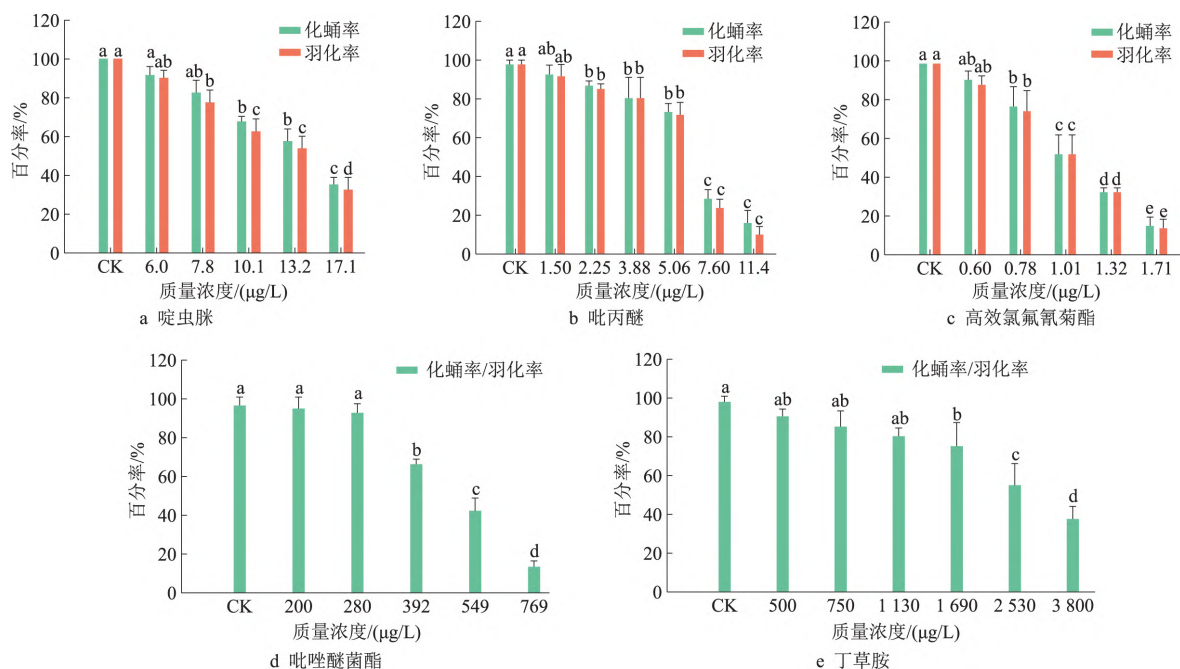
2.2 5种农药对花翅摇蚊的慢性毒性

慢性毒性试验结束后,染毒组和对照组中均未发现存活的摇蚊幼虫,说明存活的摇蚊都羽化为成虫,即摇蚊的存活率等于其羽化率。试验中发现,丁草胺和吡唑醚菌酯处理组中,花翅摇蚊的化蛹率与羽化率相同,而另外3种农药对花翅摇蚊的化蛹率略大于其羽化率。笔者推测,这可能是因为3种杀虫剂干扰了花翅摇蚊蜕皮激素的合成,进而导致一部分摇蚊在由蛹转化为成虫的阶段死亡。由图1可以看出,当啶虫脒、吡丙醚、吡唑醚菌酯、丁草胺及高效氯氟氰菊酯的质量浓度分别高于6.00 $\mu\text{g/L}$ 、1.50 $\mu\text{g/L}$ 、280 $\mu\text{g/L}$ 、 $1.13 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ 、0.60 $\mu\text{g/L}$ 时,各处理组的羽化率与对照组存在显著差异;当啶虫脒、吡丙醚及高效氯氟氰菊酯的质量浓度分别高于7.80 $\mu\text{g/L}$ 、

1.50 $\mu\text{g/L}$ 、0.60 $\mu\text{g/L}$ 时,各处理组的化蛹率与对照组存在显著差异。研究中并未发现处理组农药浓度与摇蚊的性别比存在相关性。用概率回归法计算得到5种农药对花翅摇蚊慢性毒性的 EC_{50} 分别为13.1 $\mu\text{g/L}$ 、5.47 $\mu\text{g/L}$ 、480 $\mu\text{g/L}$ 、 $3.00 \times 10^3 \mu\text{g/L}$ 和1.05 $\mu\text{g/L}$ 。

羽化率和羽化时间是摇蚊慢性毒性试验中常用的指标,一般摇蚊的羽化时间比生长终点更敏感^[9-13]。这可能是因为羽化涉及多个龄期和复杂的羽化历程。由图2可知,在所有的处理组和对照组中,存活摇蚊全部羽化一般都在3~4 d内完成。5种农药会对花翅摇蚊的羽化造成不同程度的影响,通常会使得摇蚊由幼虫到成虫的平均发育时间延后0~3 d。在啶虫脒、吡唑醚菌酯、丁草胺和高效氯氟氰菊酯的高浓度处理组中,摇蚊初次出现羽化的时间推迟

1 d,而在吡丙醚高浓度处理组中,摇蚊初次羽化的时间推迟了2 d。



注:英文小写字母不同表示不同浓度处理组之间指标差异显著($P < 0.05$)。

图1 5种农药对花翅摇蚊化蛹率及羽化率的影响

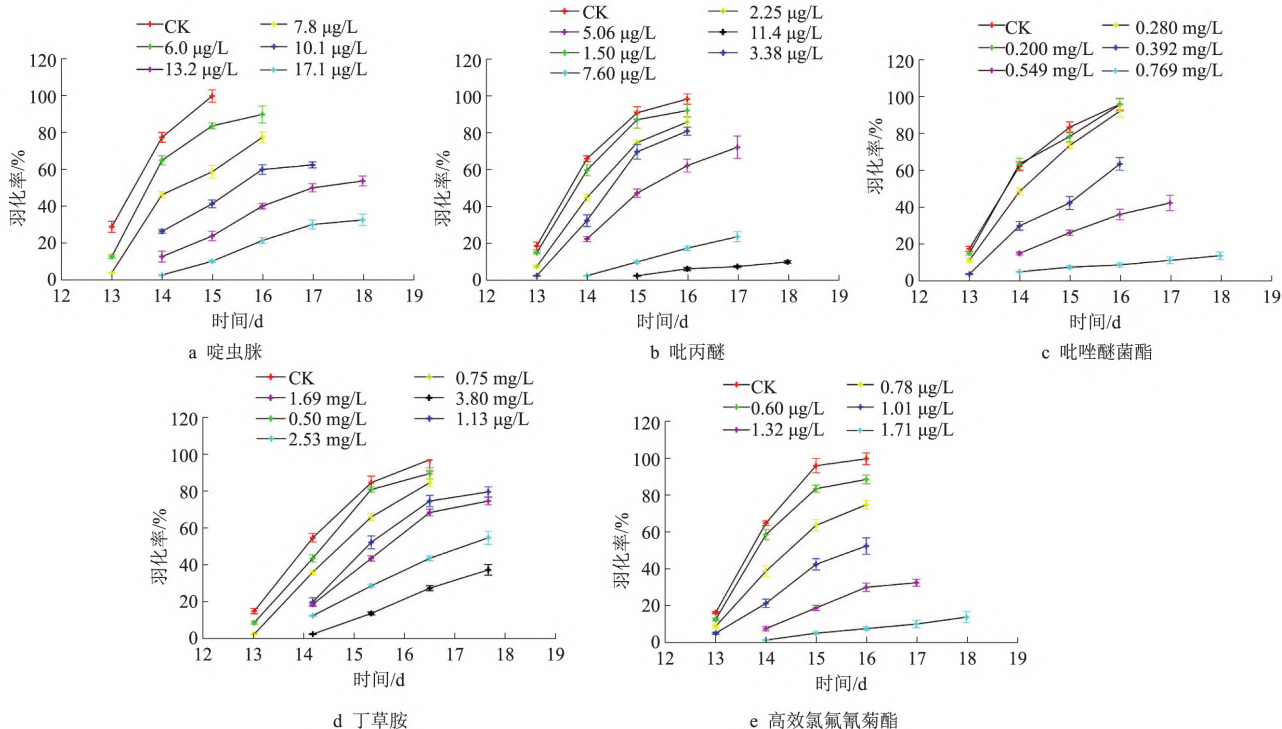


图2 花翅摇蚊羽化率随发育时间的变化

总的来说,随着处理组农药浓度的提高,摇蚊初次出现羽化的时间和平均发育时间延后,羽化率降低。试验中发现,在中高浓度处理组中,沉积物-水系统中的饲料很早就出现冗余,这表明大部分摇蚊幼虫在加标早期就会死亡。在中低浓度处理组中,摇

蚊幼虫在沉积物表面的筑巢行为明显加强,这可能是由农药分子沉降到沉积物中所引起。同时还观察到,与溶剂对照组相比,染毒组羽化摇蚊很多出现身体残缺、畸形,飞行无力落到水面或在羽化过程中死亡的现象。

3 讨论

半数抑制浓度(EC_{50})是花翅摇蚊急性毒性试验中可信的效应指标。本文研究了5种不同类型农药对花翅摇蚊1龄幼虫的急性毒性,结果显示,高效氯氟氰菊酯和啉虫脒对摇蚊的毒性最高,其次是吡丙醚、吡唑醚菌酯、丁草胺。笔者认为,5种农药对花翅摇蚊急性毒性的差异是由农药的作用机制不同决定。对于完全变态发育的摇蚊而言,化蛹和羽化是相继发生在摇蚊生活史中的2个重要过程,共同影响了摇蚊能否顺利从幼虫发育到成虫。研究摇蚊个体的化蛹、羽化和性别比能够更为全面、更为具体地评估化学农药对摇蚊的毒性影响,这对作为淡水底栖生物代表的摇蚊科昆虫的稳定发展和延续具有深远意义。本研究发现,5种农药对摇蚊的羽化率和化蛹率具有明显的浓度效应,需要注意的是,啉虫脒、吡丙醚和高效氯氟氰菊酯等杀虫剂会在羽化阶段造成摇蚊死亡,导致对摇蚊的化蛹率 EC_{50} 略高于羽化率 EC_{50} 。笔者认为,这可能是由于几种杀虫剂对摇蚊变态过程的蜕皮激素或保幼激素造成了干扰。同时,在控制处理组和对照组除染毒浓度外其他变量相同的情况下,这5种农药均会使摇蚊的羽化时间和发育时间延后,并呈现出浓度依赖效应,这与多数污染物影响效果一致,但也存在少数污染物促进摇蚊的羽化,例如一些内分泌干扰物如六氯苯、三氯苯酚、多杀霉素等^[13-15]。试验中发现5种农药对摇蚊急性毒性和慢性毒性顺序不同,吡丙醚在慢性毒性试验中表现出更高的致死率,这可能是吡丙醚会抑制摇蚊体内几丁质的合成,使其蜕皮时无法形成表皮,以及抑制卵的孵化或生成没有活性的卵^[16-17]。本研究中并没有发现各农药染毒组与羽化摇蚊雄雌比之间存在相关性,这可能是因为这些农药对摇蚊性别分化相关的激素影响较小。

综上所述,这5种农药对花翅摇蚊具有明显的生态毒性,主要概况为以下几点:(1)5种农药中,以急性毒性试验的 EC_{50} (48 h)为评判依据,毒性大小顺序为高效氯氟氰菊酯>啉虫脒>吡丙醚>吡唑醚菌酯>丁草胺;以慢性毒性试验的羽化 EC_{50} 为评判依据,毒性大小顺序为高效氯氟氰菊酯>吡丙醚>啉虫脒>吡唑醚菌酯>丁草胺。(2)农药处理会延缓幼虫的生长发育,造成羽化摇蚊的畸形。(3)高效氯氟氰菊酯、啉虫脒和吡丙醚等杀虫剂会阻碍摇蚊的蜕皮和羽化。研究这些农药对底栖动物的生态毒性,不仅为这些农药的环境风险评估提供了数据,

而且还为今后在我国利用摇蚊开展农药环境安全评价提供了参考。

参考文献

- [1] 陈锦贤. 基于DNA条形码和形态学的崇明岛摇蚊科(昆虫纲:双翅目)分类研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2022.
- [2] 齐鑫. 浙江省摇蚊亚科分类学研究及在水质评价与水产饲料中的应用[D]. 杭州: 浙江大学, 2017.
- [3] ASHE P, O'CONNOR J P. Additions and corrections to Part 1 of 'a world catalogue of Chironomidae (Diptera)' [J]. Fauna Norvegica, 2012, 31: 125-136.
- [4] 刘甜. 武陵山地区摇蚊亚科(双翅目:摇蚊科)系统学初步研究[D]. 湖北恩施: 湖北民族大学, 2019.
- [5] NOWELL L H, NORMAN J E, INGERSOLL C G, et al. Development and application of freshwater sediment-toxicity benchmarks for currently used pesticides[J]. Science of the Total Environment, 2016, 550: 835-850.
- [6] 何为军. 供水系统花翅摇蚊的防治方法及对摇蚊分子分类的初步研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [7] OECD. Test No. 235: *Chironomus* sp., acute immobilisation test [M]. Paris: OECD Publishing, 2011.
- [8] OECD. Test No. 219: Sediment-water chironomid toxicity using spiked water[M]. Paris: OECD Publishing, 2004.
- [9] TAYLOR E J U O, BLOCKWELL S J, MAUND S J, et al. Effects of lindane on the life-cycle of a freshwater macroinvertebrate *Chironomus riparius* Meigen (Insecta: Diptera)[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1993, 24(2): 145-150.
- [10] LESLIE H A, KRAAK M H, HERMENS J L. Chronic toxicity and body residues of the nonpolar narcotic 1,2,3,4-tetrachlorobenzene in *Chironomus riparius*[J]. Environ Toxicol Chem, 2004, 23(8): 2022-2028.
- [11] MARINKOVIC M, VERWEIJ R A, NUMMERDOR G A, et al. Life cycle responses of the midge *Chironomus riparius* to compounds with different modes of action[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(4): 1645-1651.
- [12] PAUMEN M L, BORGMAN E, KRAAK M H S, et al. Life cycle responses of the midge *Chironomus riparius* to polycyclic aromatic compound exposure[J]. Environmental Pollution, 2008, 152(1): 225-232.
- [13] RISTOLA T, KUKKONEN J V, PELLINEN J. Body residues and responses of the midge *Chironomus riparius* to sediment-associated 2,4,5-trichlorophenol in subchronic and chronic exposures[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 1999, 37(1): 42-49.
- [14] 刘丽, 钟文珏, 祝凌燕. 沉积物中六氯苯对摇蚊幼虫的慢性毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(2): 261-267.
- [15] 邓鑫, 刘志红, 李晓军, 等. 沉积物中多杀霉素对摇蚊幼虫的慢性毒性效应[J]. 生态与农村环境学报, 2015, 31(5): 784-788.
- [16] 孙海燕, 陈伟国, 董瑞华, 等. 10%吡丙醚EC对家蚕的毒性测试[J]. 蚕桑通报, 2008(2): 18-20.
- [17] 王永明, 辛正, 刘慧媛, 等. 5%吡丙醚微乳剂阻止蝇幼虫化蛹及羽化实验观察[J]. 预防医学论坛, 2006(5): 566-568.

(编辑:顾林玲)