

◆ 残留与环境 ◆

低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕中肠功能与健康的影响

侯佳音, 谢芯亦, 潘宁宁, 李港生, 李蒙, 陈列忠 *

(浙江省农业科学院 农产品质量安全全国重点实验室 杭州 310021)

摘要:本研究评估了长期低剂量辛硫磷暴露对家蚕中肠结构与功能的多重影响。结果表明,长期暴露下,家蚕中肠出现系统性功能紊乱,消化和解毒酶系活性显著升高,并出现柱状细胞排列紊乱、杯状细胞肿胀及微绒毛稀疏等明显病理改变,导致营养吸收受阻,体重下降。同时,暴露组中肠免疫功能被显著抑制,抗菌肽基因及免疫信号通路关键因子下调,肠道微生物多样性下降、潜在致病菌增殖及益生菌减少。综上,低剂量辛硫磷通过破坏中肠结构、代谢与免疫等,引发家蚕中肠系统性失调并抑制生长。本研究揭示了环境相关水平辛硫磷对家蚕健康的潜在威胁,为评估桑园施药安全性及指导合理用药提供了科学依据。

关键词:家蚕;辛硫磷;慢性暴露;中肠功能

中图分类号:TQ 450.2 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2025.06.009

Effects of long-term low-dose phoxim exposure on the midgut function and health of silkworm

HOU Jiayin, XIE Xinyi, PAN Ningning, LI Gangsheng, LI Meng, CHEN Liezhong*

(State Key Laboratory for Quality & Safety of Agro-Products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: The multifaceted effects of long-term low-dose phoxim exposure on the structure and function of the silkworm (*Bombyx mori*) midgut were investigated in this study. Long-term exposure caused systemic dysfunction of the midgut, evidenced by significant increases in digestive and detoxification enzyme activities, along with marked histopathological alterations such as disorganized columnar cells, swollen goblet cells, and sparse microvilli, which impaired nutrient absorption and led to body weight loss. Meanwhile, midgut immune function was markedly suppressed, as indicated by the downregulation of antimicrobial peptide genes and key immune signaling components, decreased microbial diversity, proliferation of potential pathogens, and depletion of beneficial bacteria. Collectively, these findings demonstrate that low-dose phoxim disrupts midgut integrity, metabolism, and immunity, resulting in systemic intestinal dysregulation and growth inhibition in silkworm. This study highlighted the potential threat of environmentally relevant phoxim exposure to silkworm health and provided a scientific basis for evaluating pesticide safety and guiding rational pesticide use in mulberry cultivation.

Key words: *Bombyx mori*; phoxim; chronic exposure; midgut function

家蚕(*Bombyx mori*)是一种重要的经济昆虫,养殖安全直接影响蚕业的生产效率与经济效益。目前,农药暴露仍然是威胁家蚕健康的主要风险因素之

一^[1]。辛硫磷是一种常用的有机磷杀虫剂,因其具有较强的触杀和胃毒作用,被广泛用于防治桑园鳞翅目害虫^[2]。由于其光降解速度较快,施药后残留量通常

收稿日期:2025-10-18

基金项目:浙江省自然科学基金(LY23C040001)

作者简介:侯佳音(1991—)女,河南洛阳人,助理研究员,主要从事农业污染物对非靶标生物的毒性及机制研究。E-mail: Jiayinhou@163.com
通信作者:陈列忠(1975—)男,浙江余姚人,研究员,主要从事农业污染物安全性评价研究。E-mail: zwsclz@163.com

会迅速下降。一般认为,只要严格遵守采叶安全间隔期,桑叶上农药残留不会对家蚕健康造成明显危害。

然而,在实际桑蚕生产中,桑农常会采摘安全间隔期后不久的桑叶,前期调查表明此时叶片中仍可能存在低水平的辛硫磷残留。为了保证桑叶的连续供应,农户通常采取分区轮喷的方式进行桑园管理,这可能导致家蚕在饲育过程中长期摄入低剂量的辛硫磷残留,从而对其健康造成潜在影响。近年来,为了延长药效持续时间并提高防治效果,缓释型制剂(如辛硫磷微胶囊)的使用日益增多,也进一步增加了家蚕暴露于低剂量辛硫磷残留的风险^[3]。由于风险评估体系普遍基于急性暴露结果,低剂量农药长期暴露对家蚕的毒性效应长期以来缺乏系统研究,对家蚕的健康风险可能被低估。

已有研究表明,辛硫磷对家蚕具有显著的亚致死毒性。例如,暴露于4.0 μg/mL(5龄蚕1/2 LC₅₀)辛硫磷24 h,虽未引起家蚕死亡率明显升高,但可导致其组织损伤、细胞凋亡,以及代谢酶活性和相关基因表达的改变,并伴随体重下降^[4-6]。浙江省农业科学院前期研究进一步发现,长期暴露于环境相关质量浓度(0.013~0.316 μg/mL)辛硫磷,家蚕体重增长受限,丝腺发育受损,激素水平紊乱及丝蛋白合成基因下调,最终显著降低产丝量^[7]。这些结果表明,低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕健康及经济性状均具有不可忽视的影响。

家蚕中肠是兼具消化、吸收和防御功能的重要器官,同时拥有复杂的肠道微生物群落,在维持宿主营养平衡与免疫稳态中发挥关键作用^[8-9]。已有研究显示,急性或亚致死剂量的辛硫磷暴露可导致中肠组织损伤和氧化应激反应^[5-6]。由于肠道微生物群通常对环境胁迫更为敏感,它们可能成为低剂量农药暴露的早期靶标^[10]。然而,这种更符合实际情况的低剂量长期暴露对家蚕肠道微生物群的影响仍缺乏深入研究。

本研究旨在系统评估低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕中肠结构与功能的影响,从消化、解毒、免疫及肠道微生物等多个方面揭示潜在损伤特征。研究结果有助于深化对桑园低剂量农药暴露风险的认识,并为家蚕健康安全管控和农药安全使用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试生物及药剂

家蚕(*Bombyx mori*,品系“菁松×皓月”)在实验

室标准条件下饲养,饲养环境保持在(25±1)℃、相对湿度70%~80%,光照周期为12 h光照/12 h黑暗。辛硫磷(CAS登录号14816-18-3,质量分数99%,分析纯)购自阿拉丁试剂公司(上海)。

1.2 辛硫磷处理与样品采集

根据辛硫磷对2龄家蚕的LC₅₀(0.632 μg/mL)及田间实际残留水平,设置4个暴露处理组:1/50 LC₅₀(0.013 μg/mL S1组)、1/20 LC₅₀(0.032 μg/mL S2组)、1/8 LC₅₀(0.079 μg/mL S3组)和1/2 LC₅₀(0.316 μg/mL, S4组)。新鲜桑叶在上述辛硫磷溶液中分别浸泡1 min,于室温下晾干后供家蚕取食。自家蚕2龄第1天起连续暴露。在5龄第1天,记录24 h内桑叶的提供量、剩余量及家蚕的粪便量,据此计算消化率。计算公式见式(1)。

$$\text{消化率} / \% = \frac{\text{摄食量} - \text{粪便量}}{\text{摄食量}} \times 100 \quad (1)$$

其中,摄食量为桑叶提供量与剩余量之差^[11]。

在5龄第3天,于冰上解剖采集家蚕中肠样品。用于酶活性测定和基因表达分析的组织样品立即冷冻保存于-80℃;用于组织病理学观察的样品固定于4%多聚甲醛水溶液中;中肠内容物单独收集,用于肠道微生物群分析。

1.3 组织病理观察

中肠组织经4%多聚甲醛水溶液固定后,依次进行梯度乙醇脱水、石蜡包埋,并切成5 μm厚的切片。切片经苏木精-伊红(H&E)染色后,于光学显微镜下观察组织形态变化。

1.4 酶活性测定

采用南京建成生物工程研究所生产的商品化试剂盒,按照说明书测定与消化功能相关的酶(淀粉酶、胰蛋白酶和脂肪酶),以及与解毒功能相关的酶(谷胱甘肽S-转移酶、谷胱甘肽过氧化物酶和羧酸酯酶)的活性。

1.5 基因表达分析

使用RNA-easy提取试剂盒(诺唯赞)提取中肠总RNA,采用反转录试剂盒(日本Takara)合成cDNA。使用SYBR Green试剂盒(日本Takara)在LightCycler® 96实时荧光定量PCR仪(瑞士Roche)上进行qRT-PCR实验。以RP49作为内参基因,采用2^{-ΔΔCt}方法计算目标基因的相对表达量^[12]。各引物序列如表1所示。

1.6 肠道微生物群分析

将中肠内容物收集后置于-80℃保存。使用E.Z.N.A.®粪便DNA提取试剂盒(美国Omega Bio-Tek)提取微生物DNA。扩增并测序16S rDNA基因全长,

测序平台为 Illumina MiSeq (美国 Illumina)。利用 QIIME2 软件进行生物信息学分析,评估不同分类水平下的肠道微生物群多样性与组成特征。

1.7 统计分析

统计分析采用 SPSS 软件(版本 27.0, 美国 IBM)。数据的正态性与方差齐性分别通过 Shapiro-Wilk 检

验和 Levene 检验评估。符合正态分布且方差齐的数据采用单因素方差分析(ANOVA),并通过 Dunnett 事后检验与对照组进行比较;不符合正态分布或方差齐性的数据显示采用 Kruskal-Wallis H 检验,并使用 Mann-Whitney U 检验进行比较。结果以平均值±标准误(Mean ± SE)表示,显著性水平设定为 $p < 0.05$ 。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因名称	正向引物序列(5'-3')	反向引物序列(5'-3')
RP49	GCATCAATCGGATCGCTATG	GGACCTTACGGAATCCATTG
CecA	CTCCTGAGCCCAGGTGGAAAC	AAGGCAATGACTGTGGTATGT
CecB1	ATCCTTCGTCTCGCTCTGG	GATGCCATCACGGATGTTCC
Defensin1	ATTCTCACGGTGCTCGTGT	TCGAACCTCGCACCATATCCG
FADD	CGTGCAAGTGGAACTCCAAGA	AACAGCTGCGCAATCGTTTC
Glv1	CCAGTTACGGTGGTGTCTA	CCTTCTGTGACCGAACCTCCT
Glv2	GCGAACACAAGAATGCACAAGC	CACCAATCATGGCGGATCTC
HOP	CTACCGGCTACGTATGGTGC	TTCGGAGACGCATAAGCACA
IMD	CAGAACTGATGCTGTGCCAA	TGCATGTTCGTCATCTACCG
Moricin	GCAATGTCTCTGGTGTCA	GCGATATTGATGGCTCTTAG
Pi3k60	GTTCCACAGCAGTCACCAGA	TCACGGAAGCCATATCGACC
Spz	AGCGTAAGTCAGTCGCCAAA	GAGAGTCGTCCGTTGAGCA
STAT	GAGCGTTATGGACGAGAAC	CCTGGTTGCCGTGGACTATG

2 结果与分析

2.1 辛硫磷暴露对家蚕消化功能的影响

前期研究表明,低剂量辛硫磷长期暴露后 5 龄家蚕体重显著降低^[7]。为探究其潜在影响因素,本研究测定了家蚕对桑叶的消化率,结果如表 2 所示。各暴露组的摄食量与对照组相比均无显著差异。S1~S3 组的消化量虽略高于对照组,但差异不显著;S4 组的消化量显著高于对照组。此外,各处理组的消化率均显著提高。与对照组相比,S1、S2、S3 和 S4 组分别增加约 2%、4%、6% 和 7%。

2.2 辛硫磷暴露对家蚕中肠消化功能的影响

辛硫磷暴露显著改变了中肠消化酶的活性。与对照组相比,各处理组 α -淀粉酶活性均显著升高,分

别达到对照组的 2.34 倍(S1)、2.74 倍(S2)、2.37 倍(S3)和 2.50 倍(S4)。胰蛋白酶活性整体呈升高趋势,其中 S4 组显著提高,达到对照组的 1.76 倍。S2、S3 和 S4 组脂肪酶活性显著增加,分别为对照组的 4.96 倍、5.68 倍和 6.06 倍(图 1)。

表 2 低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕营养摄入及消化参数的影响

处理组	摄食量/(g/头)	消化量/(g/头)	消化率/%
对照	1.35 ± 0.01	1.06 ± 0.02	78.5 ± 0.5
S1	1.35 ± 0.04	1.10 ± 0.03	80.9 ± 0.6*
S2	1.35 ± 0.05	1.12 ± 0.03	82.8 ± 1.0*
S3	1.32 ± 0.01	1.12 ± 0.01	84.6 ± 0.6**
S4	1.34 ± 0.01	1.14 ± 0.01*	85.1 ± 1.4*

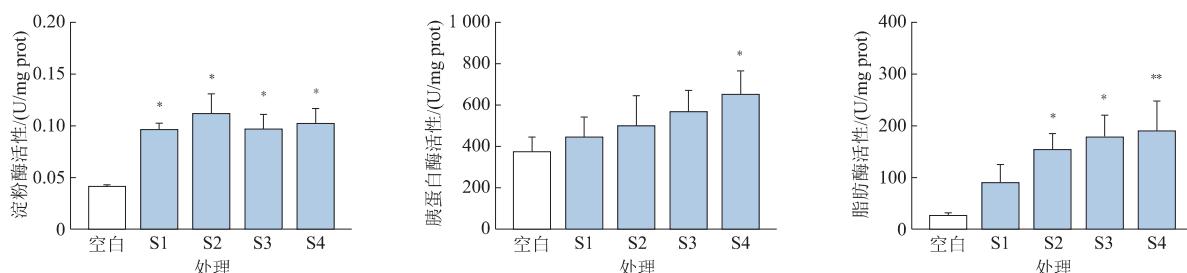


图 1 低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕中肠消化酶活性的影响

2.3 辛硫磷暴露对家蚕中肠结构的影响

低剂量辛硫磷长期暴露引起了5龄家蚕中肠明显的病理变化。如图2所示,对照组中肠上皮细胞结构完整,柱状细胞与杯状细胞交替排列,肌层完整,微绒毛致密。S1组上皮细胞排列轻度紊乱,但肌层和微绒毛尚未出现明显异常。S2组肌层明显变薄,微绒毛密度下降。S3组出现局部上皮细胞裂解。S4组上皮细胞肿胀,微绒毛稀疏,病理损伤最为明显。总体来看,中肠组织损伤随辛硫磷剂量增加呈加重趋势。

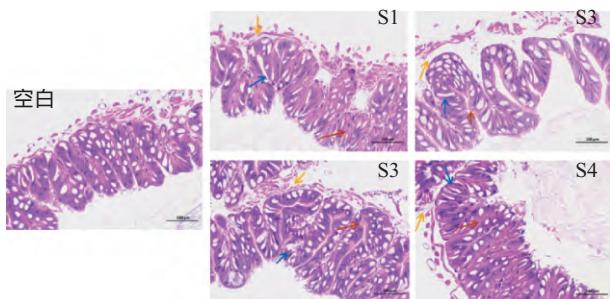


图2 低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕中肠的组织病理学分析

2.4 辛硫磷暴露对中肠解毒能力的影响

辛硫磷显著诱导中肠解毒酶活性。其中,GST活性在S2、S3和S4组中显著升高,分别为对照组的1.43倍、1.16倍和1.21倍。GSH-PX活性在所有处理组中

也明显升高,分别达到对照组的5.45倍(S1)、2.03倍(S2)、7.30倍(S3)和11.36倍(S4)。CarE酶活性呈升高趋势,其中S2和S3组显著增加,分别为对照组的1.59倍和1.33倍(表3)。这些结果表明,低剂量辛硫磷长期暴露增加了中肠的代谢解毒负荷,从而影响能量分配及生长发育。

表3 低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕中肠解毒酶活性的影响

组别	GST/(U/mg prot)	GSH-PX/(U/mg prot)	CarE/(U/mg prot)
对照	7.84 ± 0.28	0.394 ± 0.014	0.39 ± 0.04
S1	8.48 ± 0.04	2.146 ± 0.133***	0.42 ± 0.03
S2	11.25 ± 0.35***	0.800 ± 0.003*	0.62 ± 0.02**
S3	9.06 ± 0.07***	2.878 ± 0.080***	0.52 ± 0.05*
S4	9.47 ± 0.20***	4.474 ± 0.139***	0.45 ± 0.01

2.5 辛硫磷暴露对肠道微生物群的影响

2.5.1 微生物多样性

辛硫磷暴露显著改变家蚕肠道微生物群落结构。与对照组相比,各处理组的 α 多样性指数(包括Observed species、Shannon、Simpson、Chao和Ace指数)均呈下降趋势。特别是Shannon指数,S2、S3和S4组显著降低,提示物种多样性下降;而所有处理组Ace指数均显著低于对照组,进一步表明群落丰富度受到显著抑制(表4)。

表4 低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕肠道微生物组 α 多样性指数的影响

组别	Coverage	Observed species	Shannon	Simpson	Chao	Ace
对照	0.93 ± 0.01	50.00 ± 1.00	4.81 ± 0.07	0.94 ± 0.01	54.98 ± 1.99	62.97 ± 3.12
S1	0.95 ± 0.02	40.67 ± 1.86	4.33 ± 0.33	0.91 ± 0.02	44.22 ± 0.67	49.02 ± 3.02
S2	0.95 ± 0.01	29.67 ± 2.03	3.34 ± 0.18*	0.80 ± 0.03	34.38 ± 2.61	39.36 ± 3.77*
S3	0.96 ± 0.01	27.67 ± 4.98	3.53 ± 0.24*	0.85 ± 0.01	30.22 ± 4.67	33.55 ± 5.00**
S4	0.96 ± 0.01	25.33 ± 7.33	3.37 ± 0.48*	0.84 ± 0.04	28.04 ± 7.14	31.89 ± 6.83**

2.5.2 门水平微生物组成

肠道中丰度前十的门为:变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、浮霉菌门(Planctomycetota)、装甲菌门(Armatimonadota)、酸杆菌门(Acidobacteriota)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)和氢杆菌门(Hydrogenedentes)。其中,4个优势门(变形菌门、厚壁菌门、放线菌门和拟杆菌门)占总序列的96%以上。与对照组相比,辛硫磷处理组变形菌门相对丰度升高,而厚壁菌门、放线菌门和拟杆菌门丰度下降(图3)。

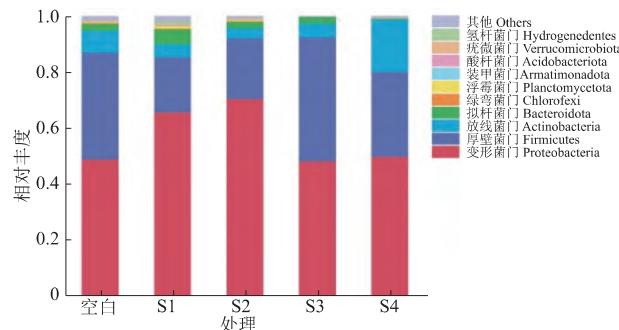


图3 低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕肠道菌群门水平群落结构组成的影响

2.5.3 属水平微生物组成

丰度前十的属包括:肠杆菌属(*Enterobacter*)、

葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、代尔夫特菌属(*Delftia*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、甲基杆菌属(*Methylobacterium*)、乳酸菌属(*Ligilactobacillus*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)和短杆菌属(*Brevibacterium*)。辛硫磷暴露后,中肠优势菌属的相对丰度发生显著变化。与对照组相比,暴露组中肠杆菌属、葡萄球菌属、代尔夫特菌属和寡养单胞菌属丰度增加,而甲基杆菌属丰度下降。值得注意的是,不动杆菌属在对照组及S1组中未检出,但在S2、S3和S4组中的相对丰度分别达到4.59%、5.95%和8.50%,呈现辛硫磷剂量依赖性升高趋势(图4)。

2.6 辛硫磷暴露对中肠免疫系统的影响

中肠抗菌肽(AMPs)相关基因的相对表达水平

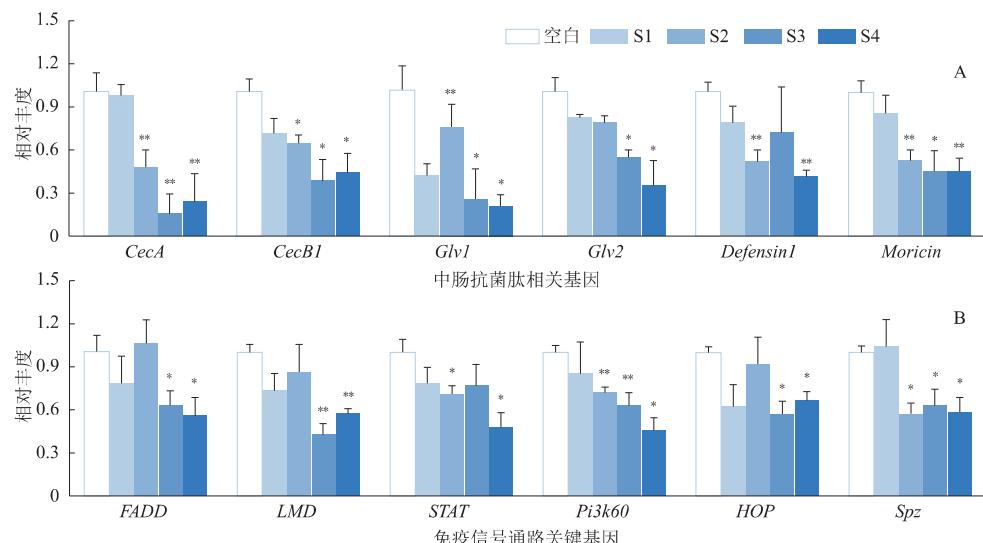


图4 低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕肠道菌群属水平群落结构组成的影响

图5 低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕中肠免疫基因转录水平的影响

免疫信号通路关键基因的表达分析显示:在IMD通路中,S3和S4组IMD和FADD转录水平显著下调。其中,IMD表达量分别降至对照组的0.43和0.58,FADD则降至0.64和0.56;JAK/STAT通路中,STAT表达量在S2和S4组中显著下调至0.72和0.48,HOP表达量在S3和S4中组分别下调至0.58和0.67;PI3K/AKT通路中,Pi3k60在S2、S3和S4组中分别显著下调至0.73、0.63和0.46;在Toll通路中,Spz在S2、S3和S4组显著下调至0.58、0.64和0.59(图5)。这些结果表明,低剂量辛硫磷长期暴露可抑制家蚕中肠的免疫反应,可能降低其抵御病原微生物的能力。

3 讨论与结论

中肠是家蚕主要的消化、解毒和免疫器官,其

显示,与对照组相比,S2、S3和S4组中CecA、CecB1及Morcin的转录水平显著下调;Defensin1在S2和S4组显著降低;而Glv1和Glv2在S3和S4组显著下调(图5)。

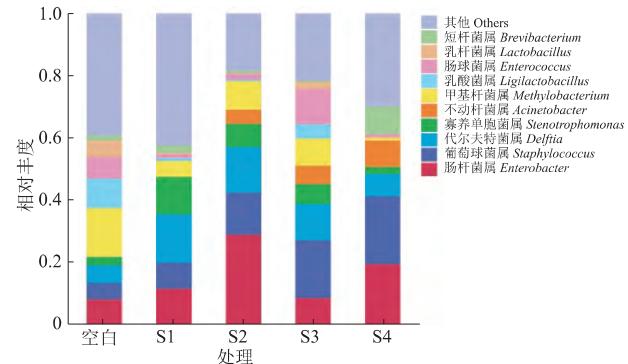


图5 低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕中肠免疫基因转录水平的影响

功能障碍直接影响个体的生长和健康。本研究探讨了低剂量辛硫磷(0.013、0.032、0.079、0.316 μg/mL)长期暴露对家蚕中肠结构与功能的影响。结果表明,家蚕生长受抑并非由于摄食量变化所致,而与辛硫磷暴露导致的中肠整体功能紊乱密切相关。农药急性暴露常导致家蚕取食行为受到抑制,桑叶摄入量明显下降^[13]。然而,本研究中在低剂量辛硫磷长期暴露条件下,并未观察到显著的取食行为改变,表明体重下降并非由摄食量减少引起。值得注意的是,暴露后家蚕消化率显著高于对照组,同时中肠中关键消化酶(α-淀粉酶、脂肪酶和胰蛋白酶)活性显著升高。已有研究表明,短期高剂量辛硫磷(4 μg/mL)暴露可显著提升消化酶活性,但随着暴露时间延长至72 h,酶活性呈下降趋势,表明持续高剂量

暴露对中肠消化功能产生了负面影响^[14]。相比之下,Gu等^[13]报道,短期低剂量辛硫磷(1 μg/mL)暴露48 h可抑制α-淀粉酶活性,但暴露时间延长至96 h,酶活性逐渐恢复接近正常水平,家蚕消化系统能够基本维持功能稳定。本研究中,在更低剂量(0.013 μg/mL)且长期暴露条件下,家蚕中肠表现出代偿性调节特征,消化率和消化酶活性增加。然而,即便在充分适应条件下,家蚕体重仍呈下降趋势,表明代偿机制不足以完全抵消低剂量辛硫磷长期胁迫带来的负面影响。

以往研究表明,较高剂量辛硫磷暴露可导致中肠柱状细胞死亡、杯状细胞裂解等组织损伤^[6,11-12]。本研究发现,长期摄入低剂量辛硫磷同样可引起中肠明显的病理变化。柱状细胞是主要的营养吸收细胞^[15]。辛硫磷暴露后柱状细胞排列紊乱、比例下降,提示中肠结构稳定性受损,可能直接降低营养吸收效率。杯状细胞通过质子泵调控离子转运以维持肠腔碱性环境^[16]。辛硫磷对其的损伤可导致离子失衡及渗透压应激,不仅破坏碱性肠腔环境,还降低消化吸收效率并削弱上皮屏障功能,不利于营养物质的供应及利用。

此外,低剂量辛硫磷长期暴露还可能通过增加能量消耗抑制家蚕生长。中肠是鳞翅目昆虫主要的解毒部位。辛硫磷暴露后,GST、GSH-PX和CarE等关键解毒酶活性显著升高。解毒系统的激活虽能加快农药代谢、降低毒性,但所需的大量能量和底物占用了机体有限的资源^[17],同时,解毒反应产生的中间代谢物可能对中肠消化和代谢功能造成额外损伤,加重机体代谢负担,从而影响生长^[18-19]。

能量不足不仅制约生长,还可能损害其他重要生理功能,尤其是免疫防御能力。本研究中,中肠抗菌肽编码基因(如CecA、CecB1)及免疫信号通路关键基因(如IMD、STAT)显著下调,提示长期辛硫磷暴露可引起系统性免疫抑制。免疫功能下降可能导致肠道微生物群落结构改变,表现为潜在条件致病菌(如肠杆菌属、葡萄球菌属和不动杆菌属)相对丰度呈剂量依赖性增加,而与多糖代谢相关的有益菌甲基杆菌属显著减少^[20-21]。完整的肠道免疫系统对于维持微生物稳态及抑制条件致病菌过度增殖至关重要。低剂量辛硫磷暴露引起的微生物群落结构改变进一步破坏了肠道稳态,最终加剧生长抑制。

本研究系统评估了低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕中肠的影响。结果显示,暴露可导致中肠结构损伤及消化、解毒、免疫功能障碍和肠道微生物紊

乱。体重下降可能与营养吸收受损及能量消耗增加有关,而免疫抑制和微生物群落改变则进一步加剧了健康风险。本研究揭示了田间低剂量辛硫磷长期暴露对家蚕产生的潜在威胁,为合理使用农药、保障家蚕健康提供了科学依据。

参考文献

- [1] 沈瑞,刘茹婷,王学杨,等.农药对家蚕的毒性研究进展[J].中国蚕业,2021,42(02): 58-65.
- [2] 秦明岗,来有鹏.国内辛硫磷的应用研究进展[J].青海农林科技,2021(4): 54-57.
- [3] 沈汉初,白锡川,沈玉丽,等.30%辛硫磷微胶囊悬浮剂防治桑园害虫的研究[J].江西农业学报,2012,24(2): 77-79.
- [4] GU Z Y, ZHOU Y J, XIE Y, et al. The adverse effects of phoxim exposure in the midgut of silkworm, *Bombyx mori*[J]. Chemosphere, 2014, 96: 33-38.
- [5] LI F C, LI M X, WANG H, et al. Effects of phoxim pesticide on the immune system of silkworm midgut[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2020, 164: 58-64.
- [6] YU X H, SUN Q Q, LI B, et al. Mechanisms of larval midgut damage following exposure to phoxim and repair of phoxim-induced damage by cerium in *Bombyx mori*[J]. Environmental Toxicology, 2015, 30(4): 452-460.
- [7] XIE X Y, HOU J Y, LI M, et al. Chronic low-dose phoxim exposure impairs silk production in *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) by disrupting juvenile hormone signaling-mediated fibroin synthesis[J]. Toxics, 2025, 13(6): e427.
- [8] ZHANG X C, ZHANG F, LU X M. Diversity and functional roles of the gut microbiota in Lepidopteran insects[J]. Microorganisms, 2022, 16(9): e1234.
- [9] WU K, YANG B, HUANG W R, et al. Gut immunity in Lepidopteran insects[J]. Developmental and Comparative Immunology, 2016, 64: 65-74.
- [10] HOU J Y, YU J Z, QIN Z H, et al. Guadipyr, a new insecticide, induces microbiota dysbiosis and immune disorders in the midgut of silkworms (*Bombyx mori*)[J]. Environmental Pollution, 2021, 286: e117531.
- [11] ZHANG S Y, GU Q X, LI Y F, et al. An amino acid-tuned gustatory receptor relatively abundant in the silkworm gut is crucial for growth and development[J]. Pest Management Science, 2025, 81(8): 4220-4229.
- [12] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCT} method[J]. Methods 2001, 25: 402 - 408.
- [13] GU Z Y, LI M X, XIA S X, et al. Effects of sublethal phoxim exposure and lower food intake on nutrient metabolism in the midguts of *Bombyx mori*[J]. Pestic Biochem Physiol, 2020, 167: e104593.
- [14] LI F C, HU J S, TIAN J H, et al. Effects of phoxim on nutrient metabolism and insulin signaling pathway in silkworm midgut[J]. Chemosphere, 2016, 146: 478-485.
- [15] HOLTOF M, LENAERTS C, CULLEN D, et al. Extracellular (下转第 74 页)

2.6 方法实际应用

根据已建立的农药残留检测方法,对上海市郊县随机采集的20份实际河道水样进行检测,一方面评价方法的实用性,另一方面对水体中14种农药残留水平进行评估。20份水样中,共检出3种农药,分别是西草净、扑草净、异丙甲草胺。其中,检出西草净样品1份,质量分数为0.000 5 mg/kg;检出扑草净样品6份,质量分数为0.000 5~0.003 3 mg/kg;检出异丙甲草胺样品11份,质量分数为0.000 5~0.001 9 mg/kg。

3 结论

本研究建立了同时快速检测水体中西草净等14种农药残留的超高效液相色谱-串联质谱方法。水样采用乙腈为提取溶剂,采取涡旋提取1 min,无需净化,直接过膜检测。14种农药的平均回收率为76.8%~118.8%,相对标准偏差为0.6%~13.8%,加标回收率和相对标准偏差都符合农药残留试验要求。该方法无需净化浓缩步骤,具有分析速度快,操作简单,准确等优点,适用于水体中常见除草剂残留的快速检测。

参考文献

- [1] 农业农村部农药检定所. 农药登记数据[DB/OL]. [2025-02-26]. <http://www.chinapesticide.org.cn/zwb/dataCenter>.
- [2] 赵志鹏. 我国水稻田除草剂登记现状分析[J]. 杂草学报, 2024, 42(2): 9-18.
- [3] 黄兰淇, 尹纪根, 陈秀, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速检测农田灌溉水中甲嘧磺隆等3种农药[J]. 农药科学与管理, 2024, 45(3): 30-33.
- [4] 朱良天. 精细化工产品手册: 农药[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 398-399.
- [5] 杨嘉辉, 王安, 杨秀鸿. 除草剂对非靶标生物及人体的生殖毒性与遗传毒性研究进展[J]. 生态毒理学报, 2021, 16(4): 119-130.
- [6] 蒋青桃, 宋仙平, 张锋, 等. 乙草胺对雄性小鼠GC-1精原细胞的毒性研究[J]. 职业与健康, 2020, 36(21): 2920-2926.
- [7] 白亚男, 周蓉, 刑巍巍, 等. 除草剂莠去津暴露对人类和其他哺乳动物健康影响的研究进展[J]. 职业与健康, 2024, 40(4): 547-553.
- [8] 王盛男, 王岩, 李雯雯, 等. 气相色谱法测定土壤中酰胺类除草剂[J]. 分析试验室, 2021, 40(1): 30-33.
- [9] 曲亚辉, 石秀丽, 张兆鑫, 等. 加速溶剂萃取-固相萃取-气相色谱法同时测定土壤中阿特拉津和乙草胺[J]. 分析科学学报, 2022, 38(3): 393-396.
- [10] 齐勋, 叶非. 磺酰脲类除草剂的高效液相色谱法残留检测技术的研究进展[J]. 农药科学与管理, 2009, 30(10): 42-46.
- [11] 曹忠波, 谷洋, 张媛媛, 等. 固相萃取-气相色谱-三重四极杆串联质谱法检测生活饮用水中8种酰胺类除草剂残留[J]. 化学分析计量, 2023, 32(7): 42-46.
- [12] 李旭霞. 加速溶剂萃取-气相色谱-串联质谱法同时测定种植土壤中7种常见除草剂的残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2023, 59(5): 532-536.
- [13] 王苏宁, 吴克刚. QuEChERS前处理结合液相色谱-串联质谱法测定稻田水中的4种农药残留[J]. 现代农业科技, 2023(6): 116-119.
- [14] 陈国峰, 贾金蓉, 李雪茹, 等. 78%扑草净·乙草胺·异噁唑草酮悬乳剂在春玉米中的残留水平及膳食风险评估[J]. 现代农药, 2022, 21(2): 49-55.
- [15] 朱富强, 郭宇鹏, 潘军, 等. 增强型脂质去除固相萃取净化-超高效液相色谱-串联质谱法测定贝类中42种除草剂残留[J]. 中国食品学报, 2023, 23(1): 373-383.
- [16] 王宽, 魏龙兵, 任业双, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时检测大豆植株及土壤中烟嘧磺隆、莠去津及其代谢物残留[J]. 植物保护, 2023, 49(6): 231-237.
- [17] 李莹, 韩梅, 邱世婷, 等. QuEChERS/超高效液相色谱-串联质谱法测定土壤中31种磺酰脲类除草剂残留[J]. 分析测试学报, 2020, 39(3): 343-350.
- [18] 陈弈如, 胡馨羽, 梁悦夫, 等. QuEChERS-UPLC-MS/MS测定水体与土壤中9种除草剂残留[J]. 农药, 2023, 39(3): 343-350.
- [19] 石莹, 徐漫, 康艺瑾, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定稻田水体中8种常用稻田除草剂的残留[J]. 农药, 2024, 63(4): 268-273.
- [20] 何红梅, 徐玲英, 张昌明, 等. 液相色谱-串联质谱法测定土壤、沉积物和水中3种除草剂残留[J]. 色谱, 2024, 42(3): 256-263.
- [21] 中华人民共和国农业农村部. 农作物中农药残留试验准则: NY/T 788—2018[S]. 北京: 中国农业出版社, 2018.

(编辑:顾林玲)

(上接第 52 页)

- nutrient digestion and absorption in the insect gut[J]. Cell and Tissue Research, 2019, 377(3): 397-414.
- [16] HUANG W R, GUAN R B, YANG B, et al. The goblet cells in Lepidoptera intestines possess a plant-vacuole-like organelle for ethanol detoxification[J]. Entomologia Generalis, 2025, 45(2): 577-586.
- [17] LIU Z X, XING X R, LIANG X H, et al. The role of Glutathione-S-transferases in phoxim and chlorfenapyr tolerance in a major mulberry pest, *Glypodes pyralalis* walker (Lepidoptera: Pyralidae) [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2022, 181: e105004.
- [18] PHUGARE S S, KALYANI D C, GAIKWAD Y B, et al. Microbial degradation of imidacloprid and toxicological analysis of its

biodegradation metabolites in silkworm (*Bombyx mori*)[J]. Chemical Engineering Journal, 2013, 230: 27-35.

- [19] LI Q, ZHANG M L, ZHU J W, et al. Unveiling biodegradation mechanism of phoxim: novel metabolic pathway, functional gene, detoxification effect, and widespread distribution of phoA [J]. Environment International, 2025, 204: e109809
- [20] WINTERHALTER C, LIEBL W. Two extremely thermostable xylanases of the hyperthermophilic bacterium *Thermotoga maritima* MSB8[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(5): 1810-1815.
- [21] 晁红军, 宋修鹏, 孙继华, 等. 甲基营养菌的研究进展[J]. 微生物学通报, 2009, 36(11): 1727-1737.

(编辑:顾林玲)