

莫能菌素对蚯蚓的生态毒理效应

王 轶¹, 刁晓平^{1,2}, 张先勇¹

(1.海南大学农学院, 海口 570228; 2.教育部热带生物资源重点实验室, 海口 570228)

摘 要 采用人工土壤法测定了不同浓度莫能菌素对蚯蚓的急性毒性和对蚯蚓生长、生存、繁殖以及超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽-S-转氨酶(GSH-S)、腺三磷酸(ATPase)、乙酰胆碱酯酶(T-CHE)活性的影响。结果表明,莫能菌素对蚯蚓14 d的 LC_{50} 为 $75.883 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;当莫能菌素含量达到 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时显著影响蚯蚓的生存($P < 0.05$),死亡率达到20%;当莫能菌素含量达到 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时显著影响蚯蚓的生长($P < 0.05$)。药物的染毒浓度与对蚯蚓生存和繁殖的抑制存在明显的剂量-效应关系。染毒21 d后,低浓度的兽药莫能菌素就能显著影响蚯蚓体内SOD、GSH-S、ATPase、T-CHE的活性,药物浓度和酶活性间具有明显的剂量-效应关系。莫能菌素对土壤动物蚯蚓显示有毒性作用,对土壤环境具有潜在的生态风险。

关键词 蚯蚓 莫能菌素 生态毒性 SOD GSH-S ATPase T-CHE

中图分类号 X503.223 **文献标志码** A **文章编号** 1672-2043(2010)06-1091-07

Ecotoxicological Effects of Monensin Pollution on Earthworm (*Eisenia fetida*)

WANG Yi¹, DIAO Xiao-ping^{1,2}, ZHANG Xian-yong¹

(1. Agricultural College, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Key Laboratory of Tropical Biological Resources, Minister of Education, Haikou 570228, China)

Abstract Effect of different concentration levels of monensin on earthworm were studied with an artificial soil test, including earthworm's growth, survival, production, and four kinds of enzyme activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione-sulfurtransferase (GSH-S), acetylcholine esterase (T-CHE) and adenosine-triphosphatase (ATPase). The results showed that LC_{50} of monensin was $75.883 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ after 14 days exposure. The reproduction of earthworms was significantly inhibited in lower monensin concentration ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) ($P < 0.05$). The survival of earthworm was significantly affected at the monensin concentrations of $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($P < 0.05$) with mortality of 20%. The growth of earthworms was inhibited at the monensin concentration of $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. There was a significant dose-response relation between the exposure concentration of monensin and earthworm growth and reproduction. In 21 days' exposure, monensin affected significantly the enzymatic activities of SOD, GSH-S, T-CHE and ATPase, showing a significant dose-response relation between exposure concentration and enzyme activity. Monensin had direct toxic effects on soil animals and also existed with a potential ecological risk.

Keywords *Eisenia fetida*; monensin; ecotoxicity; SOD GSH-S ATPase T-CHE

随着集约化畜牧业的快速发展,对兽药和饲料添加剂的依赖性日渐增强,其使用量也呈现上升的势头,兽药残留问题也日渐凸现。与国外发达国家相比,目前,我国兽药残留的研究大多集中在动物性食品中兽药的残留研究,而对其在生态环境中的残留影响研

究不多。药物进入机体后,其原形或代谢物将随动物的排泄物进入周围环境,对环境微生物和动物等非靶生物产生直接或间接的影响不容忽视^[1]。

莫能菌素是聚醚类离子载体抗生素中应用最为广泛的药物之一,被视为目前较为优秀的、应用较为广泛的兽用抗寄生虫药^[2]。它还是一种反刍动物中运用较广的饲料添加剂,它能提高牛的饲料利用率与增重速度,并能降低采食量^[3]。动物服用莫能菌素后首先被吸收,然后随胆汁排出,最后经粪便排出体外,并不在组织中蓄积,大量含有莫能菌素的畜禽排泄物常用

收稿日期 2009-11-15

基金项目 海南省自然科学基金项目(807006) 海南省教育厅科研项目(Hjkj200724) 海南省研究生科研创新项目

作者简介 王 轶(1983—),女,硕士研究生,主要从事兽药的生态毒理效应研究。E-mail: wanglialiu@163.com

通讯作者 刁晓平 E-mail: diaoxip@hainu.edu.cn

作肥料施用于农田,从而使药物进入土壤环境中。莫能菌素通常还作为饲料添加剂,大量地用于畜牧业生产中,因此通过畜禽排泄物排放到环境中的莫能菌素的数量是很大的^[4]。目前对莫能菌素的毒性研究仅停留在动物产品中,关于莫能菌素进入环境后在生态系统不同水平上对土壤无脊椎动物蚯蚓的生态毒理效应尚未见文献报道。

蚯蚓是土壤中主要的非靶陆生生物,它对化学物质的胁迫非常敏感,是评价土壤环境安全的重要指示生物,对其生态毒性的研究不仅可以反映各种化学物质的毒性效应,而且还可以反映土壤的污染状况。蚯蚓的抗氧化酶系统能对化学物质的污染状况做出早期的预警^[5]。

本研究采用人工土壤法,以蚯蚓为生物标志物,通过急性毒性和慢性毒性试验,研究莫能菌素对蚯蚓的生态毒理效应及其对超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽-硫转移酶(GSH-S)、腺三磷酸酶(ATPase)、乙酰胆碱酯酶(T-CHE)活性的影响,以便明确莫能菌素对蚯蚓的生态毒性效应,探寻该药物的作用机制,以期能对莫能菌素对土壤生物的影响做出早期预警,为兽药的环境影响和生态风险评价提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

莫能菌素(monensin)原粉(批号 050505),纯度 98%,浙江海正药业公司生产。

赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*),来自海南大学农学院动物科学系蚯蚓养殖基地。选用体重 300~400 mg、环带明显的健康成年蚯蚓为供试品。

供试土壤采自海南大学生命科学与农学院实习基地的砂壤土,为 20 cm 以下土层的清洁土壤,其 pH 值为 5.6、有机质含量为 29.93 mg·kg⁻¹,速效磷含量为 1.76 mg·kg⁻¹,速效钾含量为 7.5 mg·kg⁻¹。实验前将土壤放在烘干箱中,以 80 °C 烘干 24 h,以除去土壤中的微生物,然后研细,过 2 mm 筛,保存备用。

1.2 染毒方法

1.2.1 急性毒性实验的染毒

根据毒理实验常用的方法,在预实验的基础上确定药物的暴露浓度。采用标准的 OECD 方法,用人工土壤作为培养基质。每 1 000 g (干重) 人工土壤中各成分的比例如下:石英砂 70%、高岭土 20%、草炭土 10%,用蒸馏水调节土壤含水率为 35%,适当添加碳酸钙以调节 pH 值为 7.0±0.2。在预实验的基础上选择

7 个处理浓度:40、80、100、120、140、160、180 mg·kg⁻¹ 和一个空白对照。用丙酮溶解莫能菌素,均匀拌入人工土壤中,空白对照组加入同等体积的丙酮,每个处理和对照组均设 3 个重复。染毒前蚯蚓在人工土壤中预养 24 h,称重后放入含有不同浓度莫能菌素的人工土壤中。实验在人工气候箱中进行,温度 (20±1) °C,湿度 (75±2) %,光暗比为 12 h:12 h。定期喷洒少量双蒸水以保持基质的湿度。在实验进行的第 7 d 和第 14 d 分别记录死亡数量及中毒症状,蚯蚓体对针刺无反应判为死亡,根据概率单位法计算 LC₅₀。

1.2.2 慢性毒性实验的染毒

根据毒理实验常用的方法,在预实验的基础上确定药物的暴露浓度。实验设 1 个对照 CK,6 个暴露浓度 (2、4、10、15、25、50 mg·kg⁻¹),每个处理为 3 个重复,每个重复 10 条蚯蚓。分别将 20 mL 不同浓度系列的莫能菌素溶液(溶于丙酮)与 500 g 土壤混合,充分混合 30 min 以上,待丙酮自然挥发 24 h 后,加入 100 mL 蒸馏水,平衡 48 h 后,转移到方形带盖的塑料盒中(盖上有孔)。然后选择健康、环带明显、重量相近 (300~400 mg·条⁻¹) 的成体蚯蚓清肠 12 h 后称取初始体重,然后放入塑料容器中,每个容器放入 10 条,同时在容器表面加入 30 g 研细的无药物污染湿牛粪作为蚯蚓饵料。于人工气候箱中培养 21 d,箱中为标准实验条件:(20±1) °C,湿度 (75±2) %,光暗比为 12 h:12 h,定期喷射少量的水以保持基质的湿度。暴露结束后,利用水提法记数成活的蚯蚓数和产茧数,并称取成活蚯蚓的体重。供试蚯蚓测定其各生化指标含量或活性,茧置于含有湿滤纸的培养皿中,每 3 d 换一次滤纸,放在相同条件的培养箱中,继续培养 28 d,待茧孵化,每周检查茧的孵化情况,统计孵化的蚯蚓数。

1.3 酶活性的测定

1.3.1 酶液的制备

将慢性毒性实验染毒 21 d 后的蚯蚓,称量,在无菌蒸馏水中静置 4 h,吐净内含物。4 h 后用无菌蒸馏水将蚯蚓清洗干净,移入 4 mL 匀浆缓冲液 (1 mol·L⁻¹ Tris-HCl, pH 7.8) 中,用玻璃组织研磨器在冰水浴中研磨,将匀浆物分装入 1.5 mL 的离心管中,于 4 °C 在超速离心机上 10 000 r·min⁻¹ 离心 30 min,所得上清液-80 °C 保存备用。

1.3.2 酶活性的测定

SOD、GSH-S、T-CHE、ATPase 和总蛋白均采用南京建成生物工程研究所生产的测试盒(产品批号 20080314)测定。其他药品均为市购分析纯。每个处理

设 3 个重复,每个重复设 3 个平行,每个平行重复测定 3 次。

2.4 数据处理

采用 SAS8.1 统计软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和多重比较,对组间数据进行差异性显著分析。

2 结果与分析

2.1 莫能菌素对蚯蚓的急性毒性效应

莫能菌素对蚯蚓的急性毒性效应见表 1。在本实验条件下,莫能菌素对蚯蚓 14 d 的 LC_{50} 为 $75.88 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (可信限为 $65.58 \sim 87.81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。随着染毒时间的延长和染毒剂量的增大,蚯蚓的死亡率逐渐增加。当药物浓度达到 $160 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,染毒 14 d 后蚯蚓死亡率为 96.67%。实验中部分蚯蚓出现环带肿大、身体萎缩、体重下降,个体活动下降等现象。在高浓度处理组中蚯蚓滞留于土壤表面,分泌少量黄色渗液。蚯蚓死亡后身体变细变长,甚至断裂,有自溶现象发生。

2.2 莫能菌素对蚯蚓慢性毒性实验结果

2.2.1 莫能菌素对蚯蚓生存和生长的影响

从染毒实验结果可以看出,高浓度药物对蚯蚓的生存有一定的影响。随着药物浓度的增加,蚯蚓存活率相应降低 (表 2)。当给药浓度达到 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,蚯蚓的存活率只有 80%,显著低于对照 ($P < 0.05$)。

观察蚯蚓染毒的形态学变化发现,随着药物浓度的增加,中毒症状越来越明显,主要表现为蚯蚓个体活动性下降,不钻土,有些蚯蚓身体断裂,环带充血,身体变长,分泌出黄色的体腔液,死亡的蚯蚓还表现出身体的自溶现象。

莫能菌素对蚯蚓的生物量也有一定影响。染毒前后蚯蚓体重的变化结果见表 3。实验表明 染毒后的体重增长率随浓度的增加而不同程度的受到抑制,莫

表 2 莫能菌素染毒后蚯蚓数量的变化

Table 2 Change of number of *Eisenia fetida* after exposure of monensin

浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Concentration/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	染毒前 (条) Before exposure	染毒后 (条) After exposure	存活率/% Survival rate/%
对照 (0)	10	9.33	93.33±5.77a
2	10	9.70	96.67±5.77a
4	10	9.70	96.67±5.77a
10	10	10.00	100.00±0.00a
15	10	10.00	100.00±0.00a
25	10	86.67	86.67±15.28a
50	10	80.00	80.00±10.00b

注:表中数值后字母不同,表示与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

能菌素浓度低于 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时对蚯蚓个体体重的影响不明显,当给药浓度达到 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,蚯蚓体重明显下降,该药物浓度下蚯蚓生物量在染毒前后显示出明显差异 ($P < 0.05$)。

2.2.2 莫能菌素对蚯蚓繁殖的影响

莫能菌素对蚯蚓产茧的影响见表 4。实验结果表明,低浓度的莫能菌素对蚯蚓产茧数没有影响。随着药物浓度增加,蚯蚓产茧数逐渐减少;当莫能菌素浓

表 3 染毒后蚯蚓生物量的变化

Table 3 Change of biomass of *Eisenia fetida* after exposure of monensin

浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Concentration/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	染毒前/g Before exposure/g	染毒后/g After exposure/g	变化量/g Change/g
对照	3.10	2.54	-0.56a
2	3.09	2.80	-0.29a
4	3.10	2.64	-0.46a
10	3.21	2.59	-0.66a
15	3.36	2.30	-0.76a
25	3.33	2.27	-1.04b
50	3.46	2.54	-1.19b

表 1 莫能菌素对蚯蚓的急性毒性实验结果 (人工土壤法)

Table 1 Results of acute toxicity of monensin on earthworm by artificial soil test

药物浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Concentration/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	7 d 平均死亡数 Number of death after 7 d exposure n=10	7 d 平均死亡率/% Ave.Mortality after 7 d exposure/%	14 d 平均死亡数 Number of death after 14 d exposure n=10	14 d 平均死亡率/% Ave.Mortality after 14 d exposure/%
0	0.00	0.00	0.00	0.00
20	0.00	0.00	0.00	0.00
40	0.67	6.67	2.00	20.00
80	2.00	20.00	5.67	56.67
120	2.67	26.67	6.00	60.00
140	3.67	36.67	8.00	80.00
160	4.67	46.67	9.67	96.67

度达到 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 蚯蚓的产茧数与对照组相比, 具有显著性差异 ($P < 0.05$)。蚯蚓的产茧数与药物浓度间表现出明显的剂量-效应关系。

染毒前后莫能菌素对蚯蚓孵化率也有一定影响 (表 4)。在 21 d 的孵化期中, 当药物浓度达到 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 孵化率仅为 75%, 显著低于对照组 ($P < 0.05$)。孵化率与药物浓度间也表现出一定的相关性。

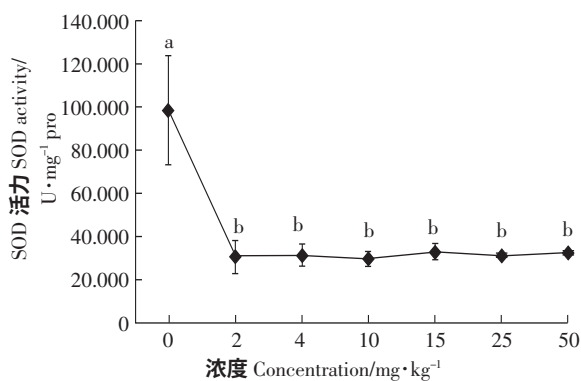
表 4 莫能菌素对蚯蚓产茧数和孵化率的影响

Table 4 Effect of monensin on number of cocoons and hatchability of *Eisenia fetida*

浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Concentration/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	产茧数/个 cocoon	孵化率/% Rate of hatchability/%
0	$25.65 \pm 1.49\text{a}$	$93.46 \pm 1.22\text{a}$
2	$24.07 \pm 1.11\text{a}$	$75.74 \pm 9.78\text{b}$
4	$26.56 \pm 0.19\text{a}$	$68.06 \pm 7.04\text{b}$
10	$25.56 \pm 4.52\text{a}$	$66.82 \pm 8.16\text{b}$
15	$17.55 \pm 3.65\text{b}$	$66.18 \pm 11.61\text{b}$
25	$14.72 \pm 4.91\text{b}$	$68.61 \pm 5.97\text{b}$
50	$16.39 \pm 3.55\text{b}$	$73.01 \pm 0.89\text{b}$

2.3 莫能菌素对蚯蚓酶活性的影响

莫能菌素对蚯蚓 SOD 酶活性的影响见图 1。染毒后 21 d, 与对照组相比, 低浓度 ($2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 药物组的蚯蚓 SOD 活性显著降低 ($P < 0.05$)。随着药物浓度的提高, 蚯蚓 SOD 酶活性持续降低, 与对照组相比, 差异很显著, 但不同浓度组间无显著差异。



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Different Small letters indicated significant difference at 0.05 level.

The same below.

图 1 莫能菌素作用下蚯蚓体内 SOD 活力的变化

Figure 1 Effect of monensin on SOD activity of earthworm (*Eisenia fetida*)

莫能菌素对蚯蚓 GSH-S 酶活性的影响见图 2。染毒后 21 d, 与对照组相比, 低浓度 ($2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 药物组的蚯蚓 GSH-S 活性显著降低 ($P < 0.05$)。随着药物

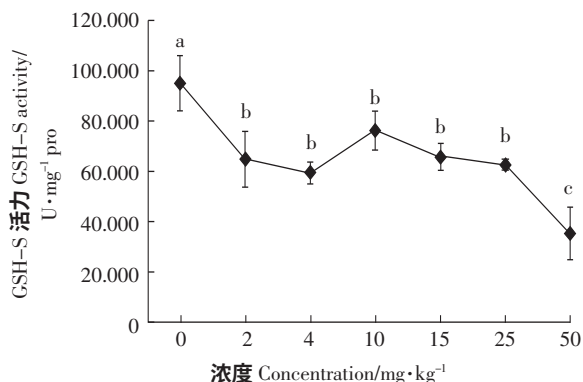


图 2 莫能菌素作用下蚯蚓体内 GSH-S 活力的变化

Figure 2 Effect of monensin on GSH-S activity of earthworm (*Eisenia fetida*)

浓度的提高, GSH-S 酶活性表现出一定的波动, 但与对照组相比, 具有明显差异 ($P < 0.05$)。当药物浓度达到 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, GSH-S 酶活性显著降低, 与对照组相比有极显著差异 ($P < 0.01$)。

莫能菌素对蚯蚓 T-CHE 酶活性的影响见图 3。染毒 21 d 后, 低浓度药物对 T-CHE 酶活性无显著影响 ($P > 0.05$)。当药物浓度达到 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, T-CHE 酶活性明显降低, 与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$)。药物浓度与 T-CHE 酶活性之间表现一定的剂效关系。

莫能菌素对蚯蚓 ATP 酶活性有明显的影 (见图 4)。从最低药物浓度组 ($2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 开始, 两种 ATP 酶的活性均受到明显影响 ($P < 0.05$)。当药物浓度达到 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} ATP 酶活性虽呈下降趋势, 但与对照相比无显著差异 ($P > 0.05$)。药物浓度与两种 ATP 酶活性之间也表现一定的剂效关系。

3 讨论

在集约化畜牧业生产中, 抗菌类及抗寄生虫兽药

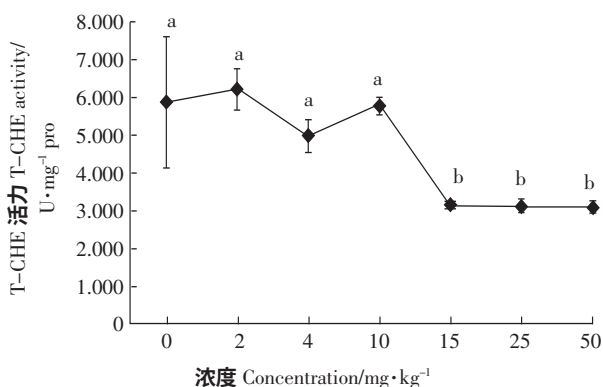


图 3 莫能菌素作用下蚯蚓体内 T-CHE 活力的变化

Figure 3 Effect of monensin on T-CHE activity of earthworm (*Eisenia fetida*)

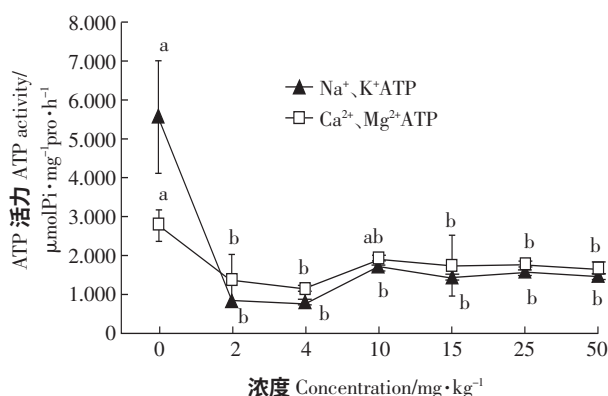


图 4 莫能菌素作用下蚯蚓体内 ATP 活力的变化

Figure 4 Effect of monensin on ATP activity of earthworm (*Eisenia fetida*)

的大量使用保障了动物的健康量。但长期超量使用抗菌类及抗寄生虫兽药,使动物性食品药物残留问题日渐突出,而药物进入机体后,其原形或代谢物将随动物的排泄物进入周围环境,对环境微生物和动物等非靶生物产生的直接或间接的影响不容忽视^[1]。

莫能菌素对细菌生长的抑制是通过其离子载体的作用,改变细菌内 H^+ 、 Na^+ 和 K^+ 的浓度,影响一些酶的活性来实现^[6]。该药物适用于肉鸡和育成鸡,常用作预防性药物添加于饲料中。马、驴、骡对莫能菌素十分敏感,马的半数致死量为 $2 \sim 3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 日粮,一般禁止使用^[7]。虽然推荐剂量的莫能菌素对靶动物安全,但是中毒事件仍常有发生。原因是莫能菌素安全范围小,超过建议剂量 20%~50% 可对动物体细胞有毒性作用,出现中毒表现^[8]。对动物组织中莫能菌素的浓度、排泄途径及其代谢已进行了广泛的研究,通过 ^{14}C 标记的莫能菌素的代谢试验研究结果表明,饲喂推荐剂量的莫能菌素,在牛和鸡的可食组织中没有检测出莫能菌素 ($<0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。对环境因素的研究也证实,排泄到土壤中的莫能菌素很快进行生物降解^[9]。

在生态毒理学实验中,急性毒性实验的死亡率可以反映特定的生物种群对化学物质的敏感性。药物对蚯蚓毒性的大小不仅取决于药物自身的毒性,而且与药物在环境介质土壤中的转归和在其体内的代谢密切相关^[10-13]。本实验采用的人工土壤法测定蚯蚓的急性毒性,这种方法接近于自然状态下药物与蚯蚓的接触方式,能够较为真实地反映药物对蚯蚓的毒性。实验结果表明,14 d 的 LC_{50} 达到 $75.88 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 干土,即使存活的蚯蚓活力也大大降低,表明莫能菌素对蚯蚓具有土壤食入毒性。

本研究利用慢性毒性实验观察了莫能菌素对蚯

蚓生长、生存和繁殖的影响。结果表明,当莫能菌素在土壤中的含量达到 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,便对蚯蚓的生存有显著的抑制作用,死亡率达到 20%;当含量达到 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时将显著影响蚯蚓的繁殖,蚯蚓的产茧数受到明显影响。当含量达到 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时就显著地影响蚯蚓茧的孵化。参考化学物质(农药)的安全性评价标准得知,当土壤中莫能菌素含量达到 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,就会对土壤中的蚯蚓产生较强的毒性作用。

SOD 主要分布于胞浆和线粒体的基质中,是一类将体内活跃并具潜在毒性的超氧阴离子 O_2^- 转变成 H_2O_2 的主要酶,在无脊椎动物体内抗氧化过程中起着重要的作用。SOD 是机体防御过氧化损害系统的关键酶之一。在正常的生理条件下,SOD 的生物生成量可以及时满足清除 O_2^- 的需要,但在衰老及病态下,氧自由基的产生与清除则会失去平衡^[14-16]。本实验中慢性暴露 21 d 后,各浓度莫能菌素均显著降低蚯蚓体的 SOD 活性 ($P < 0.05$),这表明长时间的莫能菌素暴露后蚯蚓已受到重度环境胁迫,药物对蚯蚓的毒害作用已超过其机体的适应能力。蚯蚓体内活性氧的积累,导致蚯蚓受到伤害。SOD 酶活性的抑制可能是通过影响电子传递系统的功能而间接导致的^[17]。

谷胱甘肽转移酶是生物体内的第二代谢阶段酶,可催化谷胱甘肽 (GSH) 和亲电性中间代谢物结合,使之成为水溶性化合物排出体外,从而起到解毒作用。此外谷胱甘肽转移酶还可清除生物体内脂类过氧化物,保护生物体免受氧化损伤。在脊椎动物、无脊椎动物和植物对异源物质(重金属、杀虫剂以及除草剂等)的解毒代谢中有重要的作用,而且容易被杀虫剂和重金属诱导^[18-20]。在以蚯蚓作为指示动物的毒理研究中,GSH-S 活性的诱导作用也常常被作为指示重金属和杀虫剂污染潜在分子标志物^[18]。有研究表明,GSH-S 在体内表达水平的高低是决定细胞对一些有毒化学物质的敏感性的关键因素^[20]。本实验中莫能菌素对 GSH-S 活性有抑制作用,表明莫能菌素染毒后,蚯蚓的解毒能力下降。

ATPase 存在于组织细胞及细胞器的膜上,在物质运送、能量转换以及信息传递方面具有重要作用。多种类型污染物对其有显著的诱导或抑制作用。国内外关于无脊椎动物 ATPase 的研究却很少。本研究结果表明,染毒 21 d 后,蚯蚓体 ATPase 活性表现出不同程度的下降,莫能菌素对 Ca^{2+} -ATPase 活性的抑制作用可能是由于破坏氧化磷酸化偶联,影响 ATP 的形成与释放,进而影响了与 ATP 相关的代谢功能。

T-CHE 活性是敏感的农药毒理学指标,已被广泛应用于农药毒性和环境污染评价^[21]。T-CHE 主要功能是通过快速水解神经传递介质乙酰胆碱,终止胆碱能突触中的脉冲传递^[22]。本研究结果表明,低浓度药物对 T-CHE 酶活性无显著影响,高浓度 (15、25、50 mg·kg⁻¹) 莫能菌素对蚯蚓体内 T-CHE 活性具有抑制作用,莫能菌素可能是与 T-CHE 发生乙酰化作用,从而抑制 T-CHE 活性,造成乙酰胆碱大量积累,出现神经冲动传导过度刺激和使神经纤维长期处于兴奋状态,导致生理失调^[23]。

4 结论

莫能菌素对蚯蚓的 14 d 半数致死浓度 (LC₅₀) 为 75.88 mg·kg⁻¹。低浓度的莫能菌素对蚯蚓的生存并未造成显著影响,高浓度 (50 mg·kg⁻¹) 莫能菌素对蚯蚓的生存显著影响 ($P<0.05$);当药物含量达到 25 mg·kg⁻¹ 时,对蚯蚓的繁殖有明显的抑制作用 ($P<0.05$)。药物的染毒浓度与对蚯蚓生存和繁殖的抑制存在明显的剂量-效应关系。蚯蚓暴露于不同剂量的污染土壤时,体内超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽-硫转移酶 (GSH-S)、乙酰胆碱酯酶 (T-CHE) 和腺三磷酸酶 (AT-Pase) 产生了不同程度的响应,且表现出一定的剂量-效应关系。实验结果表明莫能菌素对土壤动物蚯蚓显示有毒性作用,对土壤环境具有潜在的生态风险。

参考文献:

- [1] 周启星,孔繁翔,朱琳.生态毒理学[M].北京:科学技术出版社,2004:284-287.
ZHOU Qi-xing, KONG Fan-xiang, ZHU Lin. Eco-toxicology[M]. Beijing: Science and Technology Press, 2004: 284-287.
- [2] 王坚,魏瑞成,王冉,等.莫能菌素的作用机理及在畜牧业生产中的应用[J].兽药与饲料添加剂,2007,12(1):10-11.
WANG Jian, WEI Rui-cheng, WANG Ran, et al. The application of monensin in animal husbandry production and its mechanism [J]. *Veterinary Pharmaceuticals & Feed Additives*, 2007, 12(1): 10-11.
- [3] 宁豫昌,陈忠杰,郭宏伟,等.莫能菌素的应用现状[J].郑州牧业工程高等专科学校学报,2009,27(3):22-24.
NING Yu-chang, CHEN Zhong-jie, GUO Hong-wei, et al. The status of monensin's application [J]. *Journal of Zhengzhou College of Animal Husbandry Engineering*, 2009, 27(3): 22-24.
- [4] Juchem S O, Santos F A, Imaizumi, et al. Production and blood parameters of Holstein cows treated prepartum with sodium monensin or propylene glycol[J]. *Journal of Dairy Science*, 2004, 87(3): 680-689.
- [5] 袁方曜,王玢.有机磷污染农田中蚯蚓的生物指示研究[J].山东农业科学,2004,2:57-60.
YUAN Fang-yao, WANG Fen. Organic phosphorus pollution of farm-land in the study of earthworms in biological indicators[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2004, 2: 57-60.
- [6] Calo M L, Cascio P, Licata P, et al. Effects of monensin on Na⁺/K⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPase activities in chick skeletal muscle and myocardium after subacute treatment[J]. *European Journal of Histochemistry*, 2002, 46(4): 309-315.
- [7] 王友令.离子载体对泌乳奶牛影响的应用研究进展[J].广东畜牧兽医科技,2006(1):17-20.
WANG You-ling. The research progress of ionophore effects on the lactating cow[J]. *Guangdong Journal of Animal and Veterinary Science*, 2006(1): 17-20.
- [8] 俞文兰,张寿林.莫能菌素的毒性及其中毒的临床表现[J].中国工业医学杂志,2003,16(5):299-301.
YU Wen-lan, ZHANG Shou-lin. Toxicological effects of monensin and its clinical features of poisoning[J]. *Chinese Journal of Industrial Medicine*, 2003, 16(5): 299-301.
- [9] 张素霞,沈建忠,等.莫能菌素和盐霉素在鸡组织中的残留分析试验[J].畜牧兽医学报,2000,31(4):530-535.
ZHANG Su-xia, SHEN Jian-zhong, et al. Studies on the residue analysis method of monensin and salinomycin in chicken tissues [J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Science*, 2000, 31(4): 530-535.
- [10] Ribera D, Narbonne J F, Arnaud C, et al. Biochemical responses of earthworm *Eisenia fetida* Andrei exposed to contaminated artificial soil: effects of carbaryl[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33: 1123-1130.
- [11] 左海根,林玉锁,龚瑞忠.农药污染对蚯蚓毒性毒理研究进展[J].农村生态环境,2004,20(4):68-72.
ZUO Hai-gen, LIN Yu-suo, GONG Rui-zhong. Toxicology of pesticide pollution to earthworms[J]. *Rural Eco-environment*, 2004, 20(4): 68-72.
- [12] 李银生,曾振灵,陈杖榴,等.三种兽药对蚯蚓的急性毒性试验[J].农业环境科学学报,2004,23(4):1065-1066.
LI Yin-sheng, ZENG Zhen-lin, CHEN Zhang-liu, et al. The acute toxicity of three veterinary pharmaceuticals to earthworms[J]. *Journal of Agro-environmental Science*, 2004, 23(4): 1065-1066.
- [13] Sun Ying-jian, Diao Xiao-ping, Zhang Qi-di, et al. Bioaccumulation and elimination of avermectin B1a in the earthworms (*Eisenia fetida*) [J]. *Chemosphere*, 2005, 60: 799-704.
- [14] 曾惠,刘勇,朱明学,等.低剂量硫芥诱导大鼠脾脏氧化应激状态的改变[J].第三军医大学学报,2005,27(14):1421-1423.
ZENG Hui, LIU Yong, ZHU Ming-xue, et al. Changes of oxidative stress in rat spleen induced by low-dose sulfur mustard[J]. *Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae*, 2005, 27(14): 1421-1423.
- [15] 李丽君,刘雪梅,马恩波,等.溴菊酯对中华稻蝗 (*Oxyachinensis*) SOD 及 GSH-Px 活性的影响 [J]. 农业环境科学学报,2005,24(2): 227-230.
LI Li-jun, LIU Xue-mei, MA En-bo, et al. Effects of deltamethrin on activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) in *Oxya chinensis* [J]. *Journal of Agro-environmental Science*, 2005, 24(2): 227-230.

- [16] 马志卿, 颜瑞莉, 陈根强, 等. 松油烯-4-醇对粘虫体内保护酶活力的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32 (10) : 85-88.
- MA Zhi-qing, YAN Rui-li, CHEN Gen-qiang, et al. Effect of terpinen-4-ol on the activities of endogenous enzymes of protectives system in armyworm (*Mythimna separata* Walker) [J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry*, 2004, 32 (10) : 85-88.
- [17] 张 薇, 宋玉芳, 孙铁珩, 等. 土壤低剂量芘污染对蚯蚓若干生化指标的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18 (9) : 2097-2103.
- ZHANG Wei, SONG Yu-fang, SUN Tie-heng, et al. Effects of low dosage pyrene pollution on biochemical characters of earthworm (*Eisenia fetida*) in soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18 (9) : 2097-2103.
- [18] Lukkari T, Taavitsainen M, Soimasuo M, et al. Biomarker responses of the earthworm *Aporrectodea tuberculata* to copper and zinc exposure : differences between populations with and without earlier metal exposure [J]. *Environmental Pollution*, 2004, 129 : 377-386.
- [19] Booth L H, Heppelthwaite V J, Webster R, et al. Lysosomal neutral red retention time as a biomarker of organophosphate exposure in the earthworm *Aporrectodea caliginosa* : Laboratory and semifield experiments[J]. *Biomarkers*, 2001, 6 (1) : 77-82.
- [20] 高玉红, 孙振钧, 孙新胜, 等. 阿苯哒唑对蚯蚓 (*Eisenia fetida*) 酸性磷酸酶、谷胱甘肽硫转移酶及腺三磷酶活性的影响[J]. 生态学报, 2007, 27 (9) : 3916-3922.
- GAO Yu-hong, SUN Zhen-jun, SUN Xin-sheng, et al. Effect of alben-dazole on acid phosphatase, glutathione S-transferase and adenosine triphosphatase activities of earthworms [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27 (9) : 3916-3922.
- [21] 顾 颖, 王雨轩, 王 斌. 六种农药对乙酰胆碱酯酶活性的体外毒性效应[J]. 农村生态环境, 2005, 21 (2) : 70-73.
- GU Ying, WANG Yu-xuan, WANG Bin, et al. In vitro test for toxicity of six pesticides on acetylcholinesterase activity[J]. *Rural Eco-environment*, 2005, 21 (2) : 70-73.
- [22] 伍一军, 冷欣夫. 杀虫药剂的神经毒理学研究进展[J]. 昆虫学报, 2003, 46 (3) : 382-389.
- WU Yi-jun, LENG Xin-fu. Recent advances in insecticide neurotoxicology[J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2003, 46 (3) : 382-389.
- [23] 陈仪取, 冯 涛, 郭祥群. 3 种农药对花鲈抗氧化酶和乙酰胆碱酯酶影响的研究[J]. 厦门大学学报 (自然科学版), 2004, 43 (6) : 829-832.
- CHEN Yi-qu, FENG Tao, GUO Xiang-qun. Effects of three kinds of pesticides on antioxidant enzymes and acetylcholinesterase activities of *Lateolabrax japonicus* [J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 2004, 43 (6) : 829-832.