

救护鳄蜥食物有害重金属和农药残留的检测

吕美^{①②} 罗树毅^③ 郭怡德^① 陈耀还^③ 罗文贤^③
李林妙^① 陈金平^① 秦旭东^{③*} 江海英^{①*}

① 广东省科学院动物研究所, 广东省动物保护与资源利用重点实验室 广州 510260; ② 华南师范大学生命科学学院 广州 510631; ③ 广西大桂山鳄蜥国家级自然保护区管理中心 贺州 542800

摘要: 鳄蜥 (*Shinisaurus crocodilurus*) 为国家 I 级保护野生动物。近年来, 我国广西大桂山鳄蜥国家级自然保护区北娄繁育基地救护的鳄蜥一直存在疾病困扰, 但原因不明。为了探讨这些疾病的发生是否与其食物中的重金属及农药污染相关, 本研究采用电感耦合等离子体质谱和色谱质谱分析技术来检测其主要食物中的重金属和农药残留含量。结果显示, 与其食物(蚯蚓)相比, 鳄蜥体内的重金属含量更低, 同时, 农药残留含量在鳄蜥及其食物中均未检测出, 说明重金属和农药通过食物的生物放大作用而在鳄蜥体内累积的可能性较小。因此, 重金属与农药这两类环境污染物对鳄蜥疾病发生的影响较小。本研究为鳄蜥的人工救护繁育工作提供一定的参考, 有利于鳄蜥的保护工作。

关键词: 鳄蜥; 重金属; 农药残留

中图分类号: Q955 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2022) 05-782-05

Detection of Harmful Heavy Metals and Pesticide Residues in the Food of Rescued Crocodile Lizards

LÜ Mei^{①②} LUO Shu-Yi^③ GUO Yi-De^① CHEN Yao-Huan^③ LUO Wen-Xian^③
LI Lin-Miao^① CHEN Jin-Ping^① QIN Xu-Dong^{③*} JIANG Hai-Ying^{①*}

① *Institute of Zoology, Guangdong Academy of Sciences, Guangdong Key Laboratory of Animal Conservation and Resource Utilization, Guangzhou 510260*; ② *School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631*;
③ *Guangxi Daguishan Crocodile Lizard National Nature Reserve Management Center, Hezhou 542800, China*

Abstract: The Crocodile Lizard (*Shinisaurus crocodilurus*) is the first-class protected wild animal. In recent years, crocodile lizards in the Beilou Station in Guangxi Daguishan Crocodile Lizard National Nature Reserve in China have been plagued by diseases, but the reasons are unknown. To investigate whether the occurrence of these diseases was related to the pollution of heavy metals and pesticides in food, this study detected heavy metals and pesticide residues in their main food using inductively coupled plasma mass spectrometry and

基金项目 广州市基础研究计划基础与应用基础研究项目 (No. 202102020343), 广西大桂山鳄蜥国家级自然保护区管理中心项目, 广东省林业局生态林业建设省级财政专项资金—野生动植物保护项目;

* 通讯作者, E-mail: 625137793@qq.com, jianghywork@163.com;

第一作者简介 吕美, 男, 硕士研究生; 研究方向: 野生动物保护; E-mail: 283514214@qq.com。

收稿日期: 2022-04-14, 修回日期: 2022-07-13 DOI: 10.13859/j.cjz.202205015

chromatography mass spectrometry. Results showed that heavy metals were lower in the crocodile lizards compared with their food (earthworms), while pesticide residues were not detected in crocodile lizards and their food. These results indicate that it is less likely that heavy metals and pesticides accumulate in the crocodile lizards through biomagnification. Therefore, environmental pollutants such as heavy metals and pesticides have little effect on the occurrence of crocodile lizard disease. This study provides a references for the artificial rescue and breeding of crocodile lizards, which is benefit to the protection Crocodile Lizards.

Key words: Crocodile Lizards, *Shinisaurus crocodilurus*; Heavy metals; Pesticide residues

鳄蜥 (*Shinisaurus crocodilurus*) 属于有鳞目鳄蜥科的单型属单型种, 它属于极其濒危的物种, 在 1989 年被我国列入 I 级重点保护动物名录, 在 2016 年被列入《濒危野生动植物种国际贸易公约》(CITES I) 附录 I (Schingen et al. 2016)。但由于人为干扰、栖息地破坏造成鳄蜥种群数量急剧下降, 目前, 全球范围内的野生鳄蜥仅有一千余只 (江海英等 2021)。因此, 我国已对鳄蜥实施就地保护策略, 包括采用划定保护区、建立人工救护繁育基地等手段来开展保护工作。目前, 随着人工繁育技术的不断发展, 鳄蜥种群已有一定程度的恢复 (王振兴等 2010)。

近年来, 环境污染物如重金属对我国城市和农业土壤造成了严重的污染 (Yuan et al. 2021)。已有研究显示, 广西的土壤中也相应出现一些重金属超标现象 (路畅等 2010, 张云霞等 2018, 龙夏亿 2020)。农药残留作为另一类环境污染物, 它们的过度使用可能会在土壤和食品等环境中留下有害的残留物, 包括代谢物和降解产物, 从而对环境造成污染及对动物的健康造成威胁 (Li et al. 2021)。广西大桂山鳄蜥国家级自然保护区是现存野生鳄蜥的主要分布区, 其周边为广西国有大桂山林场, 林场种植有大量的经济型作物桉树 (*Eucalyptus robusta*), 林场工人会使用苯醚甲环唑、多菌灵、阿维菌素和草甘膦这四种农药以及含其他化学成分的农药来控制桉树的病虫害 (周娟 2021)。重金属和农药残留这两类环境污染物会通过生物地球化学循环进入空气或水体, 最终回归土壤。近几年来, 在大桂山保护区北娄管理站人工繁育的鳄蜥在夏季和秋季均遭受

疾病的侵袭, 表现为皮肤溃疡和皮肤肿大, 导致鳄蜥运动缓慢和食欲下降, 如处理不及时, 可致其死亡, 但病因尚不明确 (Jiang et al. 2022)。

鳄蜥是一种食肉性动物, 食物主要包括蚯蚓、蜘蛛纲动物及各种昆虫 (宁加佳 2007), 还发现其捕食变色树蜥 (*Calotes versicolor*) 和翠青蛇 (*Cyclophiops major*) (杨羽婕等 2019)。在北娄管理站人工救护繁育的鳄蜥主要以蚯蚓为食 (Tang et al. 2020), 蚯蚓以吞食土壤来获取有机物。因此, 有毒有害物质是否会随着蚯蚓富集到鳄蜥体内, 从而导致鳄蜥生病是值得探讨的。

为了研究大桂山保护区人工繁育鳄蜥发生的疾病是否与食物污染物有关, 本研究设计了“土壤—蚯蚓—鳄蜥”这条食物迁移途径的有毒有害物质检测, 采用电感耦合等离子体质谱和色谱质谱分析技术来检测重金属和农药残留, 以此来为鳄蜥的人工救护及繁育工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品来源

本实验中土壤、蚯蚓和鳄蜥均来自北娄鳄蜥人工繁育基地, 其中, 土壤为羊粪、牛粪和土壤混合而成, 繁育基地为了获得更丰富的蚯蚓来源, 购买了来自大桂山林场林区内职工或村民家庭养殖牛和羊的粪便, 发酵后来在繁育基地自然繁殖蚯蚓。蚯蚓为繁育基地于 2017 年野外采集后自然繁殖。蚯蚓繁殖地位于鳄蜥繁育池旁, 距离最近的繁育池有 1.5 m 左右, 海拔 98 m, 占地面积 120 m² 左右, 隔着一条 3 m

宽的林区公路与上部种植有桉树下部种有板栗 (*Castanea mollissima*) 和竹子的土山相邻。用来繁殖蚯蚓的混合土层厚度在 30 cm 左右, 周边生长有芭蕉 (*Musa basjoo*)、竹子、枫香树 (*Liquidambar formosana*) 等植物。为了采收蚯蚓, 繁育基地工作人员以每周两次的频率翻动土壤, 因此本实验中随机采集中层土壤约 500 g, 蚯蚓约 120 g, 死亡幼体鳄蜥 15 只。鳄蜥为 2021 年 7 月在繁育基地中因未知病因而死亡的幼蜥。

所有样品装入密封袋, 分成两份, 一份用于重金属检测, 一份用于农药残留检测, 贴上标签, 放入干冰中, 带回实验室进行处理。采样时间均为 2021 年 7 月。

1.2 实验方法

本实验中, 土壤、蚯蚓和鳄蜥有害重金属含量的检测方法参考国家标准 GB/T 37837-2019。对于农药残留中苯醚甲环唑的检测参考国家标准 GB 23200.113-2018, 多菌灵和阿维菌素的检测参考国家标准 GB/T 20769-2008, 草

甘膦的检测参考国家标准 SN/T 1923-2007。重金属和农药残留的检测, 每种类型的样品取 3 次重复进行测量。

1.3 数据统计分析

使用 Microsoft Office Excle 2021 计算土壤、蚯蚓与鳄蜥重金属的平均值、最大值、最小值和标准差。运用 SPSS 25.0 分析软件分别对土壤、蚯蚓、鳄蜥进行 Pearson 相关性分析并作显著性检验。

2 结果

2.1 重金属的含量及相关性分析

对北娄繁育基地内土壤、蚯蚓和鳄蜥中的重金属含量检测后统计 (表 1), 从总体上看, 土壤的各项重金属含量最高, 其次为蚯蚓, 鳄蜥最低, 呈现出下降的趋势。为了确定鳄蜥体内存在的重金属是否来源于其食物, 相关性分析显示, 鳄蜥中 Cu 和 Mn 含量与蚯蚓中 Cu 和 Mn 的相关系数分别为 0.933 和 -0.976, 但均无显著相关性 ($P > 0.05$) (表 2)。

表 1 土壤、蚯蚓和鳄蜥中重金属的含量 (单位: mg/kg)

Table 1 Concentration of heavy metal in soil, Earthworms and Crocodile Lizards (unit: mg/kg)

	土壤 Soil (n = 3)	蚯蚓 Earthworm (n = 3)	鳄蜥 Crocodile Lizard (n = 3)
铜 Cu	38.84 ± 7.85 (28.38 ~ 47.28)	14.62 ± 2.18 (12.45 ~ 17.60)	3.98 ± 0.39 (3.65 ~ 4.53)
锌 Zn	105.86 ± 12.93 (89.99 ~ 121.65)	63.87 ± 19.01 (49.31 ~ 90.72)	30.50 ± 13.10 (19.44 ~ 48.91)
锰 Mn	477.03 ± 98.84 (342.95 ~ 578.30)	146.34 ± 51.07 (74.23 ~ 185.80)	2.45 ± 1.39 (1.20 ~ 4.39)
锡 Sn	7.21 ± 0.82 (6.07 ~ 7.98)	4.81 ± 0.18 (4.56 ~ 4.97)	1.56 ± 0.88 (0.83 ~ 2.81)
铅 Pb	4.02 ± 1.36 (2.18 ~ 5.45)	1.78 ± 0.14 (1.65 ~ 1.96)	ND
铬 Cr	24.96 ± 10.65 (10.12 ~ 34.61)	9.02 ± 3.54 (4.27 ~ 12.78)	ND
钴 Co	4.65 ± 1.59 (2.45 ~ 6.18)	1.72 ± 0.59 (0.90 ~ 2.30)	ND
镍 Ni	59.19 ± 22.57 (27.34 ~ 76.84)	21.15 ± 0.18 (8.99 ~ 30.79)	ND

统计模式: 平均值 ± 标准差 (最小值 ~ 最大值); ND 表示未检出。

Statistical model: Mean ± SD (Min ~ Max); ND indicates not detected in the results.

表 2 土壤、蚯蚓与鳄蜥中 4 种重金属相关性分析

Table 2 Correlation analysis of four heavy metals in soil, Earthworm and Crocodile Lizards

		土壤 Soil	蚯蚓 Earthworm	鳄蜥 Crocodile Lizards			土壤 Soil	蚯蚓 Earthworm	鳄蜥 Crocodile Lizards	
铜 Cu	土壤 Soil	1			锰 Mn	土壤 Soil	1			
	蚯蚓 Earthworm	0.564	1			蚯蚓 Earthworm	- 0.182	1		
	鳄蜥 crocodile lizards	0.832	0.933	1		鳄蜥 crocodile lizards	0.393	- 0.976	1	
锌 Zn	土壤 Soil	1			锡 Sn	土壤 Soil	1			
	蚯蚓 Earthworm	0.890	1			蚯蚓 Earthworm	- 0.745	1		
	鳄蜥 crocodile lizards	- 0.118	- 0.559	1		鳄蜥 crocodile lizards	0.407	0.306	1	

表中数值为相关系数。显著性分析发现土壤、蚯蚓与鳄蜥中各项重金属数值之间均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

The values in the table are correlation coefficients. No significant differences was found in any of the comparisons ($P > 0.05$).

2.2 农药残留的含量

在土壤、蚯蚓和鳄蜥样本中苯醚甲环唑、多菌灵、阿维菌素和草甘膦残留含量均未检出，说明土壤、蚯蚓和鳄蜥样本中这 4 种农药残留量低于检测精度。

3 讨论

一般来说，环境中的重金属污染物很难被降解，且会随着食物链逐渐富集和转移，增加了有毒有害重金属与动物接触的机会，从而对动物造成不可避免的危害。在本研究中，土壤中检测到的 Cu、Zn、Pb、Cr、Co 和 Ni 的含量均低于土壤环境质量标准 GB 15618-2008 的规定值。由于 Mn 和 Sn 两种元素不属于标准规定元素范围内，因此采用了中国土壤元素背景值为参照（魏复盛等 1991）。本研究中，土壤 Mn 含量为 477.03 mg/kg，低于中国土壤背景值（583 mg/kg）；而土壤中 Sn 含量（7.21 mg/kg）则高于中国土壤背景值（2.6 mg/kg）。新近研究发现，中国大湾区土壤重金属 Sn 浓度为 15.1 mg/kg，但是该数值处于正常范围内（Leung et al. 2021），对比该项研究结果，Sn 含量为 7.21 mg/kg 在土壤中的含量属于正常值中，但仍需要加强警惕，在繁育基地应加强对锡制品的管控，警惕锡的渗透污染。

在鳄蜥中仅检测到 Cu、Zn、Mn 和 Sn 四种重金属，含量分别为 3.98、30.50、2.45 和 1.56 mg/kg。由于目前没有相关标准以评价鳄蜥体内重金属是否超标，我们对比了大熊猫（*Ailuropoda melanoleuca*）粪便不同重金属的含量，发现其 Cu、Zn、Mn 的含量都比本文鳄蜥体内的含量高，但是该文研究人员经风险评估发现上述三种重金属对大熊猫的健康没有产生威胁（Tian et al. 2020）。金丝猴（*Rhinopithecus roxellana*）粪便重金属检测（Liu et al. 2015）研究发现，圈养金丝猴受到 Cu、Zn 和 Mn 的威胁较小，受到 As、Hg、Pb 和 Cr 的威胁较大，且圈养金丝猴 Cu、Zn 和 Mn 的含量均高于鳄蜥。西班牙受重金属污染区域马（*Equus*

caballus）的 Cu、Zn、Mn 的含量分别为 34.9、142 和 187 mg/kg（Madejón et al. 2009），远高于鳄蜥中的重金属含量。因此，推断鳄蜥体内的 Cu、Zn 和 Mn 不是造成疾病的直接原因。锡是一种天然存在的元素，在环境中可分为有机锡和无机锡，与无机锡相比，有机锡化合物，特别是三甲基氯化锡（trimethyltin chloride, TMT），被认为毒性更大（唐小江等 2010）。小鼠（*Mus musculus*）在被分别注射剂量为 1.00 mg/kg 和 2.15 mg/kg 的三甲基氯化锡时，除活动力下降外没有其他不良反应，并在注射 2 h 后恢复正常；在被注射剂量为 4.64 mg/kg 三甲基氯化锡后，开始出现不良反应，但在 6 d 后恢复正常；在被注射剂量为 10.0 mg/kg 后，小鼠在 12 h 内全部死亡（Tang et al. 2013）。而本次检测到鳄蜥中 Sn 的含量为 1.56 mg/kg，且电感耦合等离子体质谱这种检测方法无法区分有机锡和无机锡，因此，推断鳄蜥受锡的威胁较小。

农药的使用可以降低病虫害，提高作物经济效益，但是如果过度使用会造成环境污染问题，使得有毒化学成分持续地暴露于环境或生物体内，甚至通过食物链转移发生生物放大而造成生态危害。研究发现土壤经杀虫剂如溴氰虫酰胺喷洒后，溴氰虫酰胺的浓度虽然会随着时间延长而降低，但是仍然会发生残留；即使是低浓度的溴氰虫酰胺作用于蚯蚓，其体内的溴氰虫酰胺浓度随时间不断上升，进而对蚯蚓造成直接的危害（Zhang et al. 2020）。在评价杀菌剂如己唑醇、氧唑菌、灭菌灵、速保利和氟醚唑在土壤和蚯蚓的残留污染研究也有类似的现象（Chen et al. 2014）。然而，在本研究中，鳄蜥及鳄蜥的食物蚯蚓中均未检测到苯醚甲环唑、多菌灵、阿维菌素和草甘膦这四种农药的残留，这可能与本研究使用方法的局限性有关。因为，本研究使用的方法为国家标准规定的方法，检出限较高，因此在未来的研究中，应考虑使用检测限更低的检测方法，如气相色谱-三重串联四极杆质谱（gas

chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, GC-MS/MS) 和高效液相色谱-串联质谱(high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS) 方法, 进而评估农药残留对鳄蜥健康的影响。

参 考 文 献

- Chen J H, Wang H L, Guo B Y, et al. 2014. LC-MS/MS method for simultaneous determination of myclobutanil, hexaconazole, diniconazole, epoxiconazole and tetraconazole enantiomers in soil and earthworms. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 94(8): 791-800.
- Jiang H Y, Luo S Y, Zhou J B, et al. 2022. Skin microbiota was altered in Crocodile Lizards (*Shinisaurus crocodilurus*) with skin ulcer. *Frontiers in Veterinary Science*, 9: 817490
- Leung H M, Cheung K C, Au C K, et al. 2021. An assessment of heavy metal contamination in the marine soil/sediment of Coles Bay Area, Svalbard, and Greater Bay Area, China: a baseline survey from a rapidly developing bay. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(17): 22170-22178.
- Li C, Zhu H, Li C, et al. 2021. The present situation of pesticide residues in China and their removal and transformation during food processing. *Food Chemistry*, 354(2): 129552.
- Liu Q, Chen Y, Maltby L, et al. 2015. Exposure of the endangered golden monkey (*Rhinopithecus roxellana*) to heavy metals: a comparison of wild and captive animals. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(9): 6713-6720.
- Madejón P, Domínguez M T, Murillo J M. 2009. Evaluation of pastures for horses grazing on soils polluted by trace elements. *Ecotoxicology*, 18(4): 417-428.
- Schingen M V, Le M D, Ngo H T, et al. 2016. Is there more than one crocodile lizard? An integrative taxonomic approach reveals Vietnamese and Chinese *Shinisaurus crocodilurus* represent separate conservation and taxonomic units. *Der Zoologische Garten*, 85(5): 240-260.
- Tang G S, Liang X X, Yang M Y, et al. 2020. Captivity influences gut microbiota in crocodile lizards (*Shinisaurus crocodilurus*). *Frontiers in Microbiology*, 11: 550.
- Tang X, Wu X, Dubois A M, et al. 2013. Toxicity of trimethyltin and dimethyltin in rats and mice. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 90(5): 626-633.
- Tian Z, Liu X, Sun W, et al. 2020. Characteristics of heavy metal concentrations and risk assessment for giant pandas and their habitat in the Qinling Mountains, China. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(2): 1569-1584.
- Yuan X, Xue N, Han Z. 2021. A meta-analysis of heavy metals pollution in farmland and urban soils in China over the past 20 years. *Journal of Environmental Sciences*, 101: 217-226.
- Zhang X, Wang X, Liu Y, et al. 2020. Residue and toxicity of cyantraniliprole and its main metabolite J9Z38 in soil-earthworm microcosms. *Chemosphere*, 249: 126479.
- 江海英, 陈金平, 黄铭威, 等. 2021. 龟嗜皮菌的快速鉴定及其在鳄蜥皮肤病原检测中的应用. *动物学杂志*, 56(1): 111-118.
- 龙夏亿. 2020. 广西国有大桂林林场免炼山桉树人工林土壤重金属污染评价. 长沙: 中南林业科技大学硕士学位论文.
- 路畅, 王英辉, 杨进文. 2010. 广西铅锌矿区土壤重金属污染及优势植物筛选. *土壤通报*, 41(6): 1471-1475.
- 宁加佳. 2007. 广东罗坑自然保护区鳄蜥 (*Shinisaurus crocodilurus*) 的活动时间分配及食性. 南宁: 广西师范大学硕士学位论文.
- 唐小江, 黄明, 李斌, 等. 2010. 国内外三甲基氯化锡中毒事故分析. *中国工业医学杂志*, 23(5): 352-356.
- 王振兴, 武正军, 蔡凤金, 等. 2010. 鳄蜥人工饲养技术. *广东林业科技*, 26(5): 51-55.
- 魏复盛, 陈静生, 吴燕玉, 等. 1991. 中国土壤环境背景值研究. *环境科学*, 12(4): 12-19.
- 杨羽婕, 曾治高, 王坤, 等. 2019. 鳄蜥捕食蜥蜴和蛇的现象. *动物学杂志*, 54(2): 293-297.
- 张云霞, 宋波, 杨子杰, 等. 2018. 广西某铅锌矿影响区农田土壤重金属污染特征及修复策略. *农业环境科学学报*, 37(2): 239-249.
- 周娟. 2021. 大桂林林场高质量发展现状问题及对策浅析. *南方农业*, 15(28): 99-101, 108.