

杀菌剂 Triadimefon 和 Cd 对水生生物的联合毒性

刘毅华, 杨仁斌, 邱建霞, 郭正元

(湖南农业大学农业环境保护研究所, 湖南 长沙 410128)

摘要: 采用静态试验方法研究了 Triadimefon 和 Cd 对水生生物浮萍和彭泽鲫的毒性作用。结果表明, Triadimefon 和 Cd 对浮萍的联合毒性 IC_{50} 值为 $9.19\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 对浮萍叶绿素 a 含量的影响随浓度增加显著增强。联合作用对彭泽鲫 LC_{50} 值为 $18.78\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 说明浮萍要比彭泽鲫更为敏感。在模拟的 3 种水生环境中, 联合毒性影响顺序如下: 浮萍为自来水>河水>蒸馏水, 彭泽鲫为蒸馏水>自来水>河水。

关键词: Triadimefon; Cd; 浮萍; 彭泽鲫; IC_{50} ; LC_{50} ; 联合毒性

中图分类号: X503.23 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2005)06-1075-04

Complex Toxicity of Triadimefon and Cd Towards Aquatic Organisms

LIU Yi-hua, YANG Ren-bin, QIU Jian-xia, GUO Zheng-yuan

(Institute of Agro-Environmental Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: A static experiment was made to probe into complex toxicity of fungicide triadimefon and cadmium (Cd^{2+}) to assess e-co-environment effects and toxicity correctly. The results showed that IC_{50} of complex effects on duckweed was $9.19\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and effects on concentration of chlorophyll A were heightened with increase concentrations of the xenobiotics. In addition, the LC_{50} of complex effect on *Carassius auratus* variety pengze was $18.78\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, less sensitive than duckweed. The effects of complex toxicity on duckweed and *Carassius auratus* variety pengze in different simulated aquatic solutions showed a following sequences: tap water>river water>distilled water, or, distilled water>tap water>river water. The sequences showed that the different simulated aquatic solutions have different effects on duckweed and *Carassius auratus* variety pengze when they were received the same treatment, which was more distinct in duckweed than in *Carassius auratus* variety pengze. The dissimilar substances included in the different aquatic biology induced the diverse results.

Keywords: Triadimefon; Cd; duckweed; *Carassius auratus* variety pengze; IC_{50} ; LC_{50} ; complex toxicity

Triadimefon 是一种广谱性三唑类杀菌剂, 适于防治麦类、玉米、高粱、果树、蔬菜等作物上锈病和白粉病。由于其防效好而价格低廉甚至成为许多经常使用的草坪和园艺生长调节产品的活性成分^[1], 致使环境中 Triadimefon 的暴露量巨大。近几年国外学者通过在啮齿类动物身上进行药物试验发现 Triadimefon 能引起运动过度和奖励效应, 产生类似可卡因的刺激效果^[1,2]。鉴于 Triadimefon 是一种水溶性很大的农药 (20°C 时 $700\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 容易污染水环境^[3]而造成各种生

态影响, 而 Cd 是一种污染比较广泛的重金属, 在实际生产过程和环境介质下两者很容易共存。因此研究它们之间的联合毒性对正确评价它们的生态环境毒性和影响具有十分重要的意义, 为防止农药和重金属对水体的污染和对水生生物的危害提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

野外采集的稀脉浮萍 (*Lemna paucicostata* L.) 和由湖南农业大学水产养殖场提供的彭泽鲫 (*Carassius auratus* variety pengze)。试验材料的处理和驯化以及培养液组成见参考文献[4], 试验前取外形完好、形状和大小都相近的三叶状浮萍, 健康无病、大小基本一

收稿日期: 2005-02-28

基金项目: 农业部基金项目 (NC-2002-734)

作者简介: 刘毅华 (1981—), 女, 湖南永州人, 硕士研究生。主要研究方向为环境污染物与治理。E-mail: liuyihua813@yahoo.com.cn

致的彭泽鲫进行试验。

1.2 仪器和试剂

超声波发生器,光照培养箱,1/10 000 分析天平,721 可见分光光度计,尺寸为 30 cm×25 cm×25 cm 的玻璃缸,玻璃研钵,具塞比色管及实验室常用玻璃仪器。15%Triadimefon WDG 及标准品,CdCl₂·2H₂O 和丙酮、乙醇、无水乙醇等均为分析纯。

1.3 试验设计

1.3.1 对浮萍的单因子毒性

在培养皿中分别加入 1、5、7.5、10、15 mg·L⁻¹ 的 Triadimefon 溶液,Cd 处理组浓度分别为 1、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0 mg·L⁻¹。用培养液作稀释液,使培养皿中溶液为 50 mL,另外设 1 个空白对照,平行 4 次。每 1 个培养皿中浮萍 5 株,每株浮萍有 3 个植物体,加盖在光照培养箱中连续光照培养,培养温度为 27℃±1℃,采用静态试验法,于 6、12、24、48、72、96 h 记录植物体数。试验结束后采用 Arnon 法^[5]测定各重复容器内浮萍的叶绿素 a 含量。

1.3.2 对彭泽鲫的单因子毒性

采用静态试验法,试验溶液体积为 10 L,按等对数间距设置 5 个试验浓度及 1 个空白对照,4 次平行,每浓度随机放试验鱼 10 尾。连续观察 8 h 后,定时(6、12、24、48、72、96 h)观察中毒症状,记录其死亡率,及时打捞死亡个体以免对其他鱼的生活生长产生不良影响。

1.3.3 Triadimefon 和 Cd 的联合毒性研究

试验方法同 1.3.1 和 1.3.2。在单一毒性试验基础上按毒性单位 1:1 进行联合毒性试验。

1.3.4 在模拟水生环境中的联合毒性研究

由浮萍、彭泽鲫和含培养液的蒸馏水、曝气自来水以及曝气河水(取自浏阳河湖南农业大学段)组成 3 种模拟水生环境。实验注意避强光直射,其余处理同前。

1.3.5 数据处理

见参考文献[4]、[6]。

2 结果与分析

2.1 对浮萍的单因子和联合毒性

浮萍叶片薄对水体水质变化较为敏感,处理 96 h 后观察发现,对照组浮萍生长正常,根系发达,叶片翠绿色。Triadimefon 处理组表现为根系生长受抑制,较对照个体增加少、根短且叶面积显著小,但颜色略绿且随浓度增加绿色加深。这与 Triadimefon 能抑制异戊烯途径衍生物——植物内源 GA 的生物合成,改变植物激素的平衡,从而调节植物的生长和发育有关。Cd 处理组浮萍明显出现受害症状,自 1.5 mg·L⁻¹ 起出现叶片自叶缘起,逐渐均匀失绿现象,且根系脱落;2.0 mg·L⁻¹ 处理叶片明显失绿发黄,并在叶片中央及边缘处有零星坏死斑;3.0 mg·L⁻¹ 处理叶片已逐渐发黑。单因子和联合毒性试验结果见表 1。Triadimefon 对浮萍的 IC₅₀ 值为 5.47 mg·L⁻¹,Cd 对浮萍的 IC₅₀ 值为 1.52 mg·L⁻¹,在单一毒性试验基础上,按毒性单位 1:1 进行联合毒性试验,Triadimefon 和 Cd 的毒性配比为 3:1,测得联合处理对浮萍的 IC₅₀ 值为 9.19 mg·L⁻¹,用水生毒理联合效应相加指数法求得 S(生物毒性相加作用之和)为 2.77,AI(相加指数)为-1.77<0,说明 2 种化学物质间为拮抗作用。

通过对不同处理组浮萍叶绿素 a 含量的测定,结果见表 2。发现 Triadimefon 处理组表现为有利于叶绿素 a 合成,其中 15 mg·L⁻¹ 处理叶绿素 a 含量比对照增加 35.19%,这是因为 Triadimefon 对叶绿素 a 的影响表现在刺激合成和延缓分解两个方面,具有类似 CTK 的活性,冯兆忠等^[7]研究也表明 Triadimefon 能延缓黄瓜子叶的衰老和叶绿素 a 分解。而 Cd 处理组叶绿素 a 含量与对照相比呈明显下降趋势,其原因主要是 Cd 离子作用于叶绿素 a 生物合成途径中几种酶的肽链中富含-SH 的部分,抑制了酶的活性从而阻碍了叶绿素 a 的合成。Somashekaraish^[8]在 Cd 对大豆子叶影响的研究中也有相似结论。联合处理组叶绿素 a 含量也呈降低趋势,但没有 Cd 处理组明显,说明 Cd 抑制叶绿素 a 合成和 Triadimefon 刺激叶绿素 a 合成的两种相反作用相抵后仍然是 Cd 的抑制作用比较强烈,但是 Triadimefon 能通过提高植物内源激素 ABA 含量而提高浮萍的抗逆性,减轻受到的伤害,使植物

表 1 不同处理对浮萍毒性的相关方程和参数
Table 1 Equations and parameters with different treatments

处理	方程	r ²	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹	标准误 S _E	95%置信区间
Triadimefon	y=2.539 8x+3.126 4	0.964 3	5.47	0.045 5	4.45~6.71
Cd	y=6.007 0x+3.903 3	0.923 0	1.52	0.019 0	1.39~1.65
Triadimefon + Cd	y=2.503 8x+2.587 8	0.946 3	9.19	0.046 1	7.46~11.32

表 2 不同处理对浮萍叶绿素 a 含量的影响

Triadimefon		Cd		Triadimefon + Cd	
浓度 /mg · L ⁻¹	叶绿素 a 含量 /mg · L ⁻¹	浓度 /mg · L ⁻¹	叶绿素 a 含量 /mg · L ⁻¹	浓度 /mg · L ⁻¹	叶绿素 a 含量 /mg · L ⁻¹
0	3.24 ^a	0	3.24 ^a	0	3.24 ^a
1.0	3.35 ^a	1.0	2.80 ^a	2.0	3.08 ^b
5.0	3.67 ^a	1.5	2.02 ^a	4.0	2.75 ^a
7.5	3.98 ^b	2.0	2.56 ^a	8.0	2.53 ^b
10.0	4.20 ^a	2.5	1.28 ^a	12.0	1.97 ^a
15.0	4.38 ^a	3.0	0.63 ^a	16.0	1.48 ^a

注:方差分析采用新复极差检验,α=0.01。

正常生长。

2.2 对彭泽鲫的单因子和联合毒性

Triadimefon 的浓度越高,鱼的中毒症状越明显,中毒初期鱼出现浮头、呼吸加快、焦躁不安、并有狂游跃出水面的现象,随着时间的延长,鱼游动减缓,甚至出现死亡。Cd 处理组的鱼整体比较平静,运动性能明显受抑制,随浓度的增高抑制症状越明显,染毒后 8 h 高浓度就出现死鱼现象。Triadimefon 和 Cd 对彭泽鲫的毒性均随时间延长毒性增大,Triadimefon 对彭泽鲫 LC₅₀ 值从 15.56 mg·L⁻¹(6 h)减至 13.41 mg·L⁻¹(96 h);Cd 则从 1.75 mg·L⁻¹(6 h)缩至 1.41 mg·L⁻¹(96 h)。

联合毒性试验中 Triadimefon 和 Cd 的毒性配比为 9:1,测得两者联合作用对彭泽鲫的 LC₅₀ 为 18.78 mg·L⁻¹,用水生毒理联合效应相加指数法求得 S 为 2.59,AI 为-1.59<0,说明 2 种化学物质间为拮抗作

用。分析其原因主要是由于 Cd 的毒性作用机理是与动物体内的巯基、氨基、羧基的蛋白质分子结合形成 Cd 结合蛋白,即 Cd 与彭泽鲫神经系统中的蛋白质分子结合,抑制了神经信号的传递,导致出现运动障碍;而 Triadimefon 则能通过阻断多巴胺转运子(DAT)的活动,翻转多巴胺的运输增加多巴胺在突触间隙的释放,产生类似可卡因的兴奋刺激效应,使彭泽鲫陷入癫狂状态。但是,由于多巴胺这种儿茶酚胺类神经递质需要通过其相应的膜受体(为 7 个跨膜区域组成的 G 蛋白偶联受体家族)发挥作用,Cd 能通过与膜受体蛋白质结合致使多巴胺失效,导致 Triadimefon 的作用得到减弱,因此在联合毒性试验中受试彭泽鲫从染毒开始就很平静,就是因为 Triadimefon 作用增多的多巴胺无法发挥刺激作用,Triadimefon 与 Cd 之间属于干扰拮抗作用。

表 3 不同处理对彭泽鲫毒性的相关方程和参数

Table 3 Equations and parameters of different treatments on Carassius auratus variety pengze					
处理	方程	r^2	LC ₅₀ /mg · L ⁻¹	标准误S _b	95%置信区间
Triadimefon	$y=40.725x-41.103$	0.968 0	13.41	0.005 0	13.11~13.72
Cd	$y=10.922x+3.355 5$	0.915 5	1.41	0.018 3	1.30~1.54
Triadimefon+Cd	$y=4.732 8x-1.028$	0.962 1	18.78	0.042 3	15.52~22.73

2.3 在模拟水生环境中的联合毒性

浮萍、彭泽鲫和 3 种水组成简单的模拟水生生态环境,处理设置为:浮萍+彭泽鲫+含培养液的蒸馏水(处理 I),空白对照(处理 II);浮萍+彭泽鲫+曝气自来水(处理 III),空白对照(处理 IV);浮萍+彭泽鲫+曝气河水(处理 V),空白对照(处理 VI)。加药处理中的 Triadimefon 和 Cd 毒性配比均为 9:1。

试验发现空白对照处理中的浮萍生长速度为 II>V>IV,其中培养 96 h 后浮萍个数增加率处理 II 比 IV 多 26.7%,这是由于处理 II 中的培养液充分提供了浮萍生长的营养因子,而 V 和 IV 中所含浮萍生长的营养

因子依次递减。但是 3 个空白处理中彭泽鲫反应大体一致,均无死亡现象出现,说明溶剂的不同对彭泽鲫影响不大。

3 个加药处理(I、Ⅲ和 V)对浮萍和彭泽鲫的影响分别见图 1 和图 2。从图中可以看出浮萍受 Triadimefon 和 Cd 联合毒性影响顺序为自来水(处理 III)>河水(处理 V)>蒸馏水(处理 I);对彭泽鲫的影响为蒸馏水(处理 I)>自来水(处理 III)>河水(处理 V)。说明不同水生环境中,浮萍和彭泽鲫所受影响大小不一致,两种毒物对浮萍影响更大。蒸馏水中由于含有培养液对浮萍生长提供了充足的养分,而且由于

彭泽鲫分散毒物的毒性以及拮抗作用的存在,使生活在其中的浮萍所受到的抑制明显小于养分不足的河水和自来水中的浮萍。值得注意的是,在低浓度($<15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)时,河水中的浮萍抑制率要稍低于自来水中的浮萍抑制率,然后随浓度升高抑制率超过后者。这是由于曝气河水中存在少许的有机质和悬浮物质,它们易对带正电荷的 Cd^{2+} 产生吸附作用,从而钝化了 Cd^{2+} 的毒性作用^[9]。这种钝化作用在低浓度时候表现明显,但是随着浓度升高,整体毒性作用加强,从而导致浮萍的抑制率增加。这种钝化作用在对彭泽鲫的毒性作用中表现更为明显,河水中的彭泽鲫所受毒物影响最小,与蒸馏水中相比死亡率减少 16.9%。与 Triadimefon 和 Cd 仅对浮萍或彭泽鲫作用相比,水生环境中的浮萍抑制率明显增加,而彭泽鲫的死亡率降低。这是因为前者的浮萍试验是在有充足光照培养的理想条件下,有利于浮萍生长;而水生环境试验中由

于组成了一个简单的小生态环境,浮萍的存在相当于给彭泽鲫喂食,增强了彭泽鲫的抗逆性,使毒物作用得到弱化。

3 结论

(1)Triadimefon 能通过改变浮萍内部激素平衡来调节浮萍的生长和发育,促进叶绿素 a 的合成,表现出类似 CTK 的活性;Cd 则通过抑制含 SH 基的酶的活性来阻碍浮萍叶绿素 a 的合成;Triadimefon 和 Cd 对浮萍的联合毒性表现为拮抗作用。

(2)Triadimefon 能通过作用于多巴胺转运子 (DAT) 的活动,产生类似可卡因的兴奋刺激效应,使彭泽鲫陷入癫狂状态;Cd 能与神经系统中的蛋白质分子结合,抑制神经信号的传递,导致彭泽鲫出现运动障碍;Triadimefon 和 Cd 对彭泽鲫的联合毒性与对浮萍一样,表现为拮抗作用。

(3)在不同模拟水生生态环境,浮萍受 Triadimefon 和 Cd 联合毒性影响顺序为自来水>河水>蒸馏水;对彭泽鲫的影响为蒸馏水>自来水>河水。说明不同水生环境中,浮萍和彭泽鲫所受影响大小不一致,浮萍的敏感性更强。

参考文献:

- [1] Reeves R, Thiruchelvam M, Richfield E K, et al. Behavioral sensitization and long-term neurochemical alterations associated with the fungicide Triadimefon [J]. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2003, 76: 315-326.
- [2] Reeves R, Thiruchelvam M, Cory-Slechta D A. Expression of behavioral sensitization to the cocaine-like fungicide Triadimefon is blocked by pretreatment with AMPA, NMDA and DA D1 receptor antagonists [J]. *Brain Research*. 2004, 1008: 155-167.
- [3] 刘毅华, 杨仁斌, 肖 曲, 等. 三唑酮水解动力学研究 [J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(6): 1133-1135.
- [4] 宋稳成, 杨仁斌, 郭正元, 等. 二氯喹啉酸对湘云鲫的急性毒性及对鱼鳃、肝脏 ATP 酶活性的影响 [J]. 农村生态环境, 2002, 18(2): 44-46, 49.
- [5] 张 彤, 金洪钧. 用浮萍试验监测 4 种污染物得植物毒性 [J]. 中国环境科学, 1995, 15(4): 266-271.
- [6] 龚道新, 杨仁斌, 樊德方, 等. 咪鲜安及其主要代谢物对常见水生动物的急性毒性研究 [J]. 湖南农业大学学报 (自然科学版), 2003, 29(3): 223-225.
- [7] 冯兆忠, 王 静. Triadimefon 对离体黄瓜子叶膜系统的影响 [J]. 西北植物学报, 2002, 22(3): 651-655.
- [8] Somashekaraiah B V, Padmaja K, Prasad R K. Phytotoxicity of Cadmium ions on germination seedling of mung bean: Involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation [J]. *Physiology of Plant*, 1992, 85: 85-89.
- [9] 徐晓白. 典型化学污染物在环境中的变化及生态效应 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.

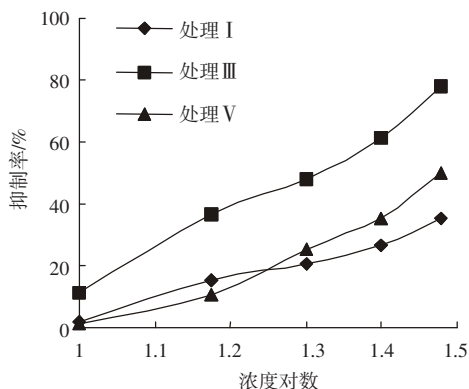


图 1 不同水生环境中浮萍的抑制率

Figure 1 Inhibition rates of duckweed at different aquatic solutions

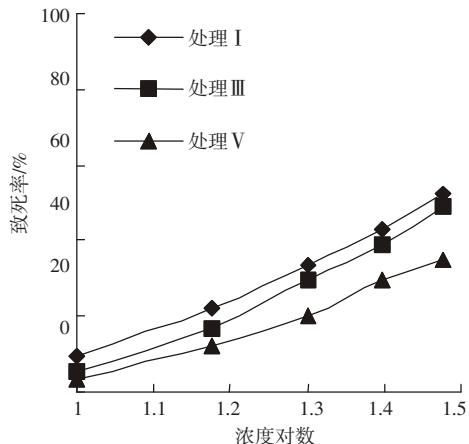


图 2 不同水生环境中彭泽鲫的致死率

Figure 2 Lethal rates of Carassius auratus variety pengze at different aquatic solutions