

丁硫克百威对水中食蚊鱼的毒性及其降解产物克百威的动态变化

潘波^{1,2}, 林勇^{1,2*}, 姜蕾^{1,3}, 楚小强^{1,3}, 刘迎^{1,3}

(1.中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海口 571101; 2.农业部儋州农业环境科学观测实验站, 海南 儋州 571737; 3.农业部热带作物有害生物综合治理重点实验室, 海口 571101)

摘要:采用固相萃取高效液相色谱柱后衍生荧光检测器检测法,检测了水中克百威的动态变化,比较了90%丁硫克百威原药和20%丁硫克百威乳油制剂的一种主要代谢产物的动态变化及其对野生食蚊鱼的毒性。结果表明:添加90%丁硫克百威原药的水中,有效成分浓度分别为0.1、0.2、0.6、1.2、1.8 mg·L⁻¹时,96 h后水中克百威浓度分别为0.018、0.037、0.114、0.189、0.244 mg·L⁻¹,此时测得其对水中食蚊鱼 LC₅₀ 为0.079 mg·L⁻¹;添加20%丁硫克百威乳油制剂的水中,有效成分浓度分别为0.1、0.2、0.6、1.2、1.8 mg·L⁻¹时,96 h后水中克百威的浓度分别为0.020、0.040、0.122、0.215、0.276 mg·L⁻¹,此时测得其对水中食蚊鱼 LC₅₀ 为0.047 mg·L⁻¹。实际测得的丁硫克百威对水中食蚊鱼的毒性已演变成丁硫克百威和其降解产物的联合毒性,20%丁硫克百威的乳油制剂在水中代谢能力及其对水中食蚊鱼的毒性均高于90%丁硫克百威原药。

关键词:丁硫克百威;动态变化;食蚊鱼;毒性

中图分类号:X503.225 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)09-1764-07 doi:10.11654/jaes.2013.09.009

A Major Degradation Product's Dynamic Changes and Toxicity to *Gambusia affinis* of Carbosulfan in Water

PAN Bo^{1,2}, LIN Yong^{1,2*}, JIANG Lei^{1,3}, CHU Xiao-qiang^{1,3}, LIU Ying^{1,3}

(1.Institute of Environment and Plant Protection, Academy of Tropical Agriculture Sciences of China, Haikou 571101, China; 2.Danzhou Scientific Observing and Experimental Station of Agro-Environment, Ministry of Agriculture, P.R.China, Danzhou 571737, China; 3.Key Laboratory of Pests Comprehensive Governance for Tropical crops, Ministry of Agriculture, P.R.China, Haikou 571101, China)

Abstract: A method for the determination of carbofuran residues in the water was developed by SPE-HPLC. Residues in water were extracted with acetonitrile, followed by cleanup with SPE column. The extracted samples were analyzed by HPLC with post-column derivatization system and fluorescence detector. The correlation coefficient (R^2) of this method was 0.999 9. In this study, to analyze carbofuran's dynamic changes in water, carbosulfan technical (90%) and formulation (20% EC) was added to water in the same carbosulfan concentration as 0.1, 0.2, 0.6, 1.2 mg·L⁻¹ and 1.8 mg·L⁻¹, respectively. Then, at the end of 96 h, the contents of carbofuran ranged from 0.018 mg·L⁻¹ to 0.244 mg·L⁻¹ for water treated with carbosulfan technical (90%). Whereas, for water treated with carbosulfan formulation (20% EC), the concentrations of carbofuran ranged from 0.020 mg·L⁻¹ to 0.276 mg·L⁻¹. Meanwhile, the LC₅₀ of 96 h for *Gambusia affinis* exposed to carbosulfan technical (90%) and formulation (20% EC), was 0.079 mg·L⁻¹ and 0.047 mg·L⁻¹, respectively. Thus, when applied to water, compared to carbosulfan technical (90%), carbosulfan 20% EC formulation exhibited stronger toxicity to *Gambusia affinis*, and, the acute toxicity of carbosulfan to *Gambusia affinis* would be replaced by the joint toxicity of carbosulfan and its degradation products.

Keywords: carbosulfan; dynamic changes; *Gambusia affinis*; toxicity

收稿日期:2013-02-04

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(21007091);中央科研院所基本科研业务费专项(1630042012010)

作者简介:潘波(1985—),男,河南驻马店人,硕士,研究方向为农药毒性与环境安全。

*通信作者:林勇 E-mail:linyongty@163.com

鱼类在水生生态系统中处于较高的营养级,与人类的生活关系密切,并且对水质的变化敏感^[1],因此通过测定农药对鱼类的 LC_{50} 来评价农药对鱼类的急性毒性,为评价农药对生态环境的影响提供基础资料,已得到广泛的认可^[2-4]。进入水体中的农药,特别是一些易降解农药很容易通过光解、水解、微生物降解等方式转化成其他物质^[5],其对鱼类的毒性已演变成农药本体与其降解产物的联合毒性,并且农药原药和制剂在水体中的降解转化能力有所差异,其对水体中鱼类的毒性和环境影响亦不相同。目前,关于外源污染物对水中鱼类的毒理作用的研究,主要集中在以下几个方面:在鱼类受到污染胁迫时,在分子、细胞、生理上的变化^[6-9];对其存活、生长、繁殖能力的影响^[4,10-11]。而对此时污染物及其降解产物在水中变化的相关研究鲜有报道。

食蚊鱼(*Gambusia affinis*)是原产于北美洲的著名入侵物种,1927年引入中国,已经在长江以南的广大地区扩散分布。丁硫克百威(Carbosulfan)是氨基甲酸酯类农药发展到第三阶段的产物,系克百威低毒化衍生物,杀虫谱广,毒性只有克百威的二十分之一,易降解,主要代谢产物为克百威和3-羟基克百威^[12-14]。近些年,其主要的检测方法大多数为HPLC-MS或PC-MS,液质联用与气质联用技术能同时测定丁硫克百威及其降解产物,并且灵敏度高,检出限低,结果准确可靠^[14-15],但是,质谱的价格昂贵一般实验室无法承担。本文采用邻苯二甲醛(OPA)柱后衍生法测定了丁硫克百威的一种主要代谢产物克百威在水中的动态变化。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器

600E型高效液相色谱(美国Waters);柱后衍生反应系统(美国Waters);试剂管理单元(美国Waters);Waters 2475 荧光检测器,Empower 色谱工作站;固相萃取小柱 500 mg/6mL[美国Phenomenex, Strata NH₂(55 μ m, 70A)];全玻璃真空过滤器(德国Startorius stedim);KL512型氮吹仪(北京康林科技有限责任公司);旋转蒸发仪(瑞士BUCHI);恒温振荡器(常州澳华仪器有限公司);ABT220-5DM 十万分之一电子天平(德国科恩)。

1.1.2 试剂

90%丁硫克百威原药、20%丁硫克百威乳油制

剂(海南农药厂);乙腈、甲醇、二氯甲烷分析纯(广州化学试剂厂);氯化钠、无水硫酸钠均为分析纯(广州化学试剂厂),140℃烘烤4h;液相色谱用甲醇、乙腈均为色谱纯(美国Fisher scientific);片状氢氧化钠(97%)、十水硼酸钠(99.5%~105%,英国Alfa Aesar);邻苯二甲醛(OPA)、2-巯基乙醇(ME,美国Sigma);克百威标准品 99.9%(美国Sigma);丁硫克百威标准品 94.4%(美国Sigma)。

1.1.3 试验用水与试验用鱼

试验用水为曝气24h的自来水,pH6.46~6.75,溶氧量4.75~5.32 mg·L⁻¹,水温24.5~25.5℃。

试验用鱼为中国热带科学院植物园附近池塘采集的野生食蚊鱼,试验前在室内饲养14d,饲养容器为810 cm×370 cm×540 cm的玻璃水族缸,每天正常投饵,然后挑选无伤、无病、规格基本一致的个体作为试验对象,实验当天和试验期间不投饵。

1.2 方法

1.2.1 液相色谱条件

色谱柱 Waters carbamate analysis 3.9 mm×150 mm Column;流动相A为水,流动相B为甲醇;柱温30℃;进样量20 μ L;荧光检测器激发波长330 nm;发射波长465 nm;柱后衍生试剂0.05 mol·L⁻¹氢氧化钠(0.3 mL·min⁻¹);OPA试剂(0.3 mL·min⁻¹);反应器温度80℃;溶剂梯度与流速程序见表1。在此液相色谱条件下,克百威的保留时间为19.765 min。

表1 梯度洗脱程序

Table 1 The gradient elution program

时间 Time/ min	甲醇 Methanol/ %	水 Water/ %	流速 Flow rate/ mL·min ⁻¹
0	85	15	0.5
2	75	25	0.5
8	75	25	0.5
9	60	40	0.8
10	55	45	0.8
19	20	80	0.8
25	20	80	0.8
26	85	15	0.5

1.2.2 试验设计

预备试验:本试验采用静态法生物测试,以食蚊鱼为受试生物。先按照急性毒性试验方法进行预备试验,试验时将两种药剂配制成有效成分(丁硫克百威)浓度为1000 mg·L⁻¹的蒸馏水溶液,配制每种药剂时添加0.5 mL丙酮和0.5 mL吐温-20助溶,并配制相同浓度的助溶剂的蒸馏水溶液作为溶剂对照,尽量做到

药剂现配现用。预备试验统一用 2500 mL 烧杯,每个烧杯盛 2 L 水,经过多次预备试验确定食蚊鱼死亡率在 0~100%的药剂浓度范围。

正式试验:试验前,将自来水在室温下曝气 24 h,并测量水中的 pH、溶氧量及水温。根据预备试验结果,分别设置两种药剂有效成分的浓度梯度都为 0.1、0.2、0.6、1.2、1.8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,进行正式急性毒性试验。每个药剂各设 5 个处理组,同时设两个对照组:一个空白水对照,一个溶剂对照。共 12 个处理,每处理设 3 个平行。每个烧杯放 10 尾体态均一、体色光亮、健康、活跃、无畸形的食蚊鱼。试验观测 4 d,每 24 h 记录一次试验水温度、pH 值及试验室光照强度,以保证药液浓度保持相对稳定状态、试验鱼的生活环境相对统一。正式试验初期,第 8 h 作首次记录,并不定时观察,以后每 24 h 作一次试验记录。观察并记录 96 h 内试验食蚊鱼中毒症状、死亡数量及死亡时间,并及时剔除死亡食蚊鱼,防止死鱼变质影响水质。每次 24 h 观察食蚊鱼死亡率后,取 100 mL 水样,提取、浓缩并检测其中克百威的残留量。

1.2.3 样品的前处理

(1)样品的提取:量取 100 mL 水样,倒入预先盛有 35 g 氯化钠(140 $^{\circ}\text{C}$ 烘烤 2 h)的三角烧瓶中,磁力搅拌器搅拌 3~5 min。倒入 250 mL 分液漏斗,并量取 40 mL 乙腈于分液漏斗中振荡萃取分液,水相倒回分液漏斗中,再用 20 mL 乙腈二次萃取,合并两次有机相于盛有 35.0 g 无水硫酸钠(140 $^{\circ}\text{C}$ 烘烤 2 h)三角瓶中,充分搅拌 3~5 min 脱水。定性滤纸过滤,滤液倾入 1 L 梨形瓶内,并用少量乙腈冲洗烧杯,倾于梨形瓶中,旋转蒸发近干(旋蒸参数:水浴温度 35 $^{\circ}\text{C}$,压力 0.013 MPa)。用 2 mL 甲醇:二氯甲烷=1:99 溶液,分两次将其洗出于 2.5 mL 离心管中,待净化。

(2)样品的净化:连接好固相萃取装置,移液管移取 4 mL 甲醇:二氯甲烷=1:99 溶液预洗条件化。当溶剂液面达到吸附层表面时,立即加入待净化溶液,并用 15 mL 离心管收集洗脱液。加入 2 mL 甲醇:二氯甲烷=1:99 溶液于 2.5 mL 离心管后,过柱,重复一次,并收集洗脱液(大约 6 mL)。将洗脱液置于 50 $^{\circ}\text{C}$ 氮吹仪上蒸发近干,再用色谱纯甲醇定容 2.5 mL,过 0.45 μm 滤膜,待测。

1.2.4 准确度和精密度试验

用空白自来水样品进行 3 个浓度的添加回收实验,使克百威在水中的浓度分别为 0.02、0.1、0.5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,按照上述方法进行样品前处理和 HPLC 检测。根

据实验结果,评价方法的准确度和精密度。

2 结果与分析

2.1 标准曲线、方法的准确度和精密度

按照上述色谱条件,待仪器稳定后,采用峰面积外标法进行定量。克百威样品及标准品色谱峰见图 1,得到克百威的保留时间为 19.705 min 附近。将储备液用甲醇稀释成浓度为 0.1、0.5、1、5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准溶液,分别进样测定,每个浓度至少进样 3 次,得到峰面积平均值,以峰面积 y 对标准液浓度 x 制作标准曲线。在试验浓度范围内,峰面积与质量浓度呈直线相关,其线性方程为

$$y=3\,776\,187.37x-12\,227.33, R^2=0.999\,9$$

取未检出克百威的空白水样,做加标回收实验,分别进行 3 个浓度的添加回收实验。每个浓度重复 3 次,结果(表 2)表明,方法的回收率在 86.8%~92.3% 之间,相对平均标准偏差在 5.0%~6.7% 之间,以 3 倍信噪比计算,得到仪器对水中克百威的检出限为 0.01 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,符合农残检测要求。

2.2 水中丁硫克百威的一种降解产物克百威的动态变化

由于丁硫克百威在环境中易降解,克百威为其主要降解产物之一。水中克百威的浓度很大程度上反应了丁硫克百威的降解趋势。按实验设计,90%丁硫克百威原药和 20%乳油制剂在水中的加药量梯度都为 0.1、0.2、0.6、1.2、1.8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,加药并放入食蚊鱼后分别在第 8、24、48、72、96 h 采样,然后对样品中克百威的残留量进行测定,丁硫克百威原药测定结果见图 2,丁硫克百威制剂见图 3。由图 2 可以看出,在添加 90%丁硫克百威原药的水样中,有效成分浓度为 0.1、0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的水中,8 h 样品中未检出有克百威。随着时间的延长,克百威在水中的浓度呈现逐渐升高的趋势,96 h 水中克百威浓度分别为 0.020、0.040、0.122、0.215、0.276 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。由图 3 可以看出,添加 20%丁硫克百威乳油制剂的水样中,有效成分浓度为 0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的水中,8 h 样品中未检出克百威,且浓度为 0.1、0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的水中,克百威的浓度在 24 h 时达到峰值,分别为 0.031、0.064 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;而浓度为 0.6、1.2、1.8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的水中,克百威的浓度在 72 h 时达到峰值,分别为 0.151、0.190、0.311 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.3 不同质量分数丁硫克百威污染水中食蚊鱼死亡率的动态变化

本试验为了测定水中克百威的动态变化,采用静

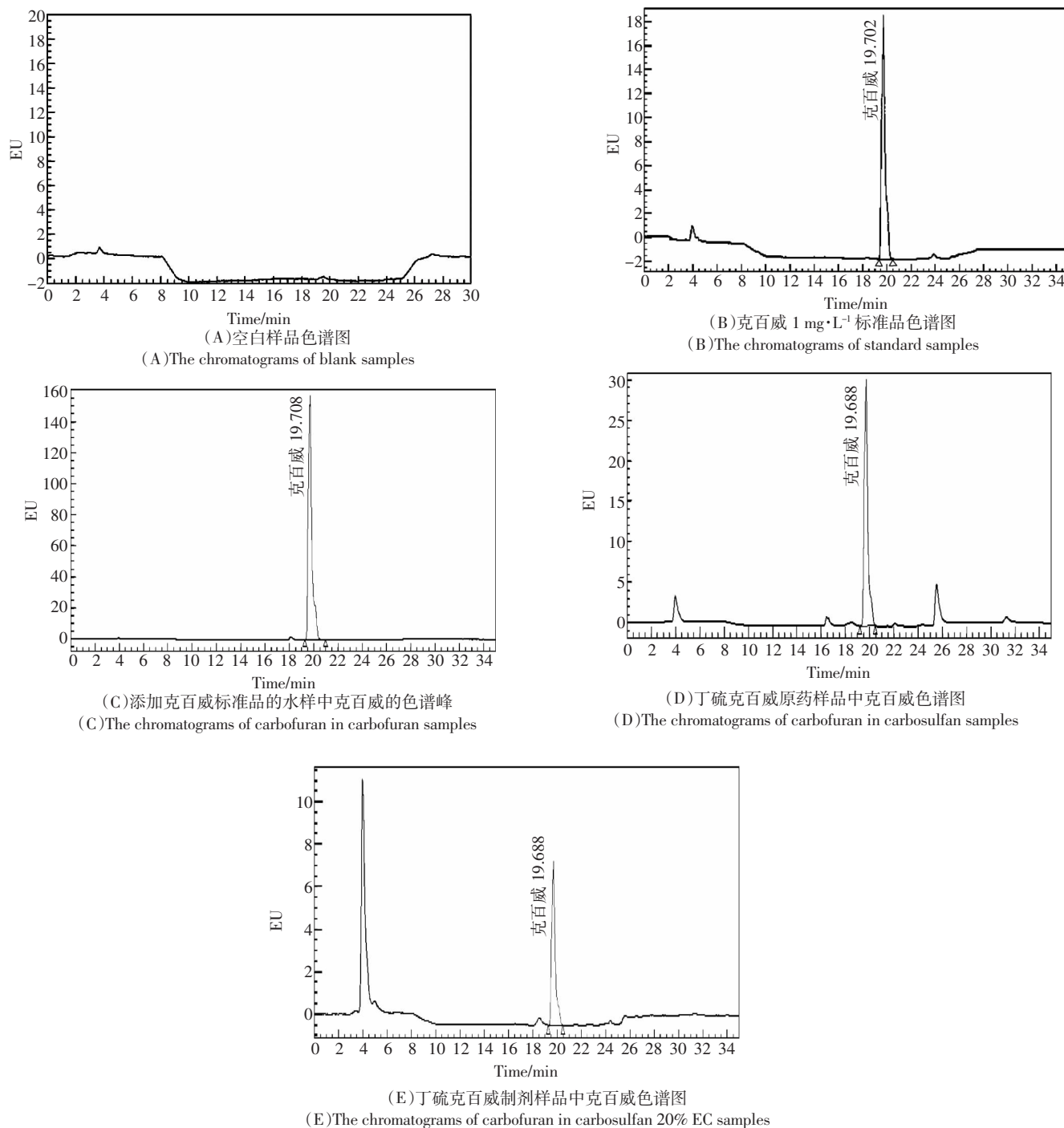


图 1 克百威色谱图

Figure 1 The chromatograms of carbofuran in samples and standard samples

表 2 克百威在水中的添加回收率

Table 2 Recoveries of carbofuran in soil

添加水平 level/mg·L ⁻¹	Fortified level/mg·L ⁻¹	样品量 volume/mL	Sample volume/mL	平均回收率 Average recovery/%	相对标准偏差 RSD/%
0.01		100.0		90.9	6.7
0.02		100.0		86.8	5.0
0.1		100.0		92.3	6.4

态法进行试验。在试验过程中,随农药浓度的增加,鱼的中毒症状变得明显。初始,鱼在水中躁动不安,冲撞杯壁,有时还有跃出水面的现象;试验 3 h 出现中毒症状,鱼体色逐渐变暗,腮部溢血,游动减慢,渐渐安静;8 h 部分食蚊鱼失去平衡,侧游,其中高浓度部分死亡,死亡特征主要为身体弯曲,畸形,沉于杯底,腹

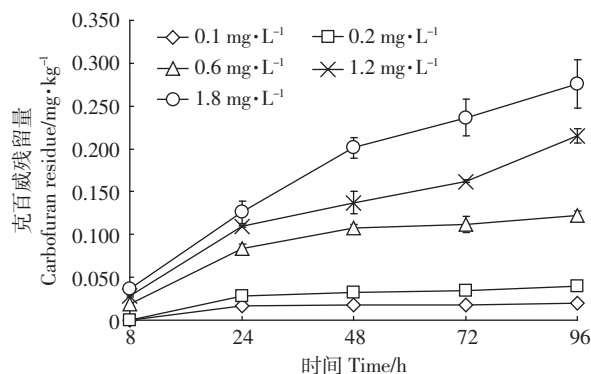


图2 水中90%丁硫克百威原药主要降解产物克百威的动态变化

Figure 2 Dynamic changes of a major degradation product of carbosulfan in water

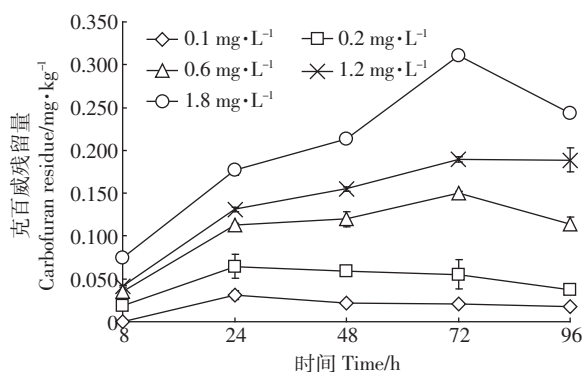


图3 水中20%丁硫克百威乳油制剂主要降解产物克百威的动态变化

Figure 3 Dynamic change of a major degradation product of carbosulfan 20% EC formulation in water

部朝上。捞出观察,身体僵硬,腮部溢血。空白和溶剂对照试验,无中毒症状发生,96 h 无死亡现象。试验结果如图4、图5。90%丁硫克百威原药和20%丁硫克百威乳油制剂对水中食蚊鱼的 LC_{50} 及相关毒力方程见表3。

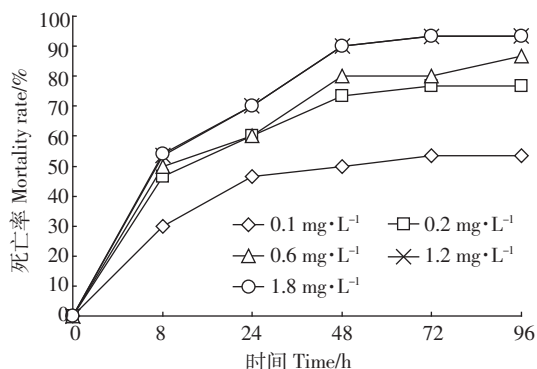


图4 不同质量分数丁硫克百威原药污染水中食蚊鱼死亡率的动态变化

Figure 4 Dynamic changes of mortality in water which was contaminated different mass fraction carbosulfan

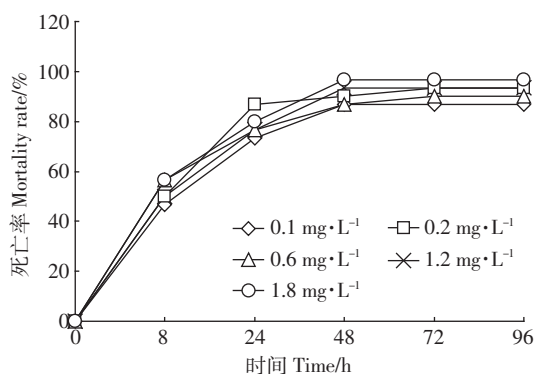


图5 不同质量分数丁硫克百威20%乳油制剂污染水中食蚊鱼死亡率的动态变化

Figure 5 Dynamic changes of mortality in water which was contaminated different mass fraction carbosulfan 20% EC formulation

表3 丁硫克百威原药与乳油制剂对食蚊鱼的 LC_{50} Table 3 The LC_{50} values of carbosulfan technical and formulation for *Gambusia affinis*

药剂 Pharmacy	时间 Time/h	毒力回归方程 Virulence regression equation	半致死浓度 LC_{50} $mg \cdot L^{-1}$	相关系数 R^2	95%置信区间 95% confidence interval
原药	24	$y=5.385\ 8+0.479\ 4x$	0.157	0.994	0.028~0.890
	48	$y=6.038\ 5+1.026\ 8x$	0.097	0.998	0.033~0.289
	72	$y=6.167\ 7+1.114\ 1x$	0.090	0.991	0.031~0.260
	96	$y=6.268\ 3+1.147\ 7x$	0.079	0.987	0.026~0.236
制剂	24	$y=7.936+3.209x$	0.122	0.818	0.097~0.152
	48	$y=9.605+4.622x$	0.101	0.987	0.086~0.118
	72	$y=10.357+4.987x$	0.084	0.846	0.070~0.101
	96	$y=7.836+2.129x$	0.047	0.968	0.027~0.080

由表3可以得出,90%丁硫克百威原药对食蚊鱼第24、48、72、96 h的 LC_{50} 分别为0.157、0.097、0.090、0.079 $mg \cdot L^{-1}$;20%乳油制剂对食蚊鱼第24、48、72、96 h的 LC_{50} 分别为0.122、0.101、0.084、0.047 $mg \cdot L^{-1}$,由96 h的 LC_{50} 可见,丁硫克百威原药和乳油制剂对水

中的食蚊鱼属剧毒农药,并且丁硫克百威乳油制剂对食蚊鱼的毒性高于原药。

3 讨论

试验 48 h 时,添加不同浓度 90%丁硫克百威原药的水中,克百威浓度分别为 0.022、0.059、0.120、0.155、0.213 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,此时测得其对水中食蚊鱼 LC_{50} 为 0.097 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;添加相同浓度的 20%丁硫克百威乳油制剂的水中,克百威浓度分别为 0.017、0.032、0.107、0.137、0.201 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,此时测得其对水中食蚊鱼 LC_{50} 为 0.101 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。试验 96 h 时,添加不同浓度 90%丁硫克百威原药的水中,克百威浓度分别为 0.018、0.037、0.114、0.189、0.244 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,此时测得其对水中食蚊鱼 LC_{50} 为 0.079 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;添加相同浓度的 20%丁硫克百威乳油制剂的水中,克百威浓度分别为 0.020、0.040、0.122、0.215、0.276 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,此时测得其对水中食蚊鱼 LC_{50} 为 0.047 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。由于克百威本身是剧毒农药,其对水中食蚊鱼的毒性不容忽视,实际测得的丁硫克百威对水中食蚊鱼的毒性已演变成丁硫克百威和其降解产物的联合毒性。

在试验开始后第 8、24、48、72、96 h,有效成分浓度相同时,添加丁硫克百威乳油制剂的水样中克百威浓度均高于添加丁硫克百威原药的水样,且添加丁硫克百威原药的水样中克百威浓度一直呈现增长趋势并未出现峰值。由此可见,20%丁硫克百威乳油制剂在水中的降解能力要明显高于 90%丁硫克百威原药。可能是由于农药乳油制剂中添加了一些乳化剂、溶剂等,提高了农药在水中的分散性,增加了其在水中的接触面积,易被水中的微生物吸取利用,甚至农药本身被微生物用作碳源或能源,以致使其在水中更容易降解^[16]。

丁硫克百威 90%原药和 20%乳油制剂 96 h- LC_{50} 表明,其对水中的食蚊鱼属剧毒农药,并且有效成分浓度相同时,20%丁硫克百威乳油制剂对食蚊鱼的毒性高于 90%原药。国内外对丁硫克百威对环境生物的影响已做了大量相关研究,Giri 等^[17]研究表明丁硫克百威具有遗传毒性和潜在的致突变性;Chandrasekara 等^[18]研究表明,丁硫克百威能显著抑制水中罗非鱼体内乙酰胆碱酯酶的活性,对鱼苗、小鱼和成年鱼 48 h 的 LC_{50} 分别为 3.37、7.02、8.72 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;Borran 等^[19]研究表明,孔雀鱼比虹鳉鱼更易受丁硫克百威毒性的影响,在浓度 0.031 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的丁硫克百威的水中,杀死 50%的虹鳉鱼的时间为 107 h 57 min。可

见,丁硫克百威对水中鱼类危害较大,与本文结论相同。此外,在先前所做的相关研究中,90%丁硫克百威原药和 20%制剂对土壤中蚯蚓 5 d 的 LC_{50} 分别为 213.085、138.578 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;7 d 的 LC_{50} 分别为 170.514、113.757 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,对土壤中蚯蚓属低毒性农药,并且其在土壤中也能降解成为毒性较高,残留期较长的克百威,而克百威对蚯蚓在 5、7 d 的 LC_{50} 分别为 11.708、9.856 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[20]。所以施入土壤中的丁硫克百威对环境生物及人类身体健康威胁较大,特别是一旦随雨水进入水体对水中鱼类能产生较大危害。

4 结论

由于克百威本身是种剧毒农药,其在水中的浓度及其对食蚊鱼的毒性不容忽视,实际测得的丁硫克百威对水中食蚊鱼的毒性已演变成丁硫克百威和其降解产物的联合毒性。

20%丁硫克百威乳油制剂在水中的降解能力要明显高于 90%丁硫克百威原药。丁硫克百威原药和乳油制剂对水中的食蚊鱼属剧毒农药,并且丁硫克百威乳油制剂对食蚊鱼的毒性高于原药。

参考文献:

- [1] 吴强,王爱华,董兆军. 用鱼类研究化学物质生殖毒性的方法[J]. 癌变·畸变·突变, 2001, 13(1): 58-61.
WU Qiang, WANG Ai-hua, DONG Zhao-jun. Study the reproductive toxicity of chemicals using fish[J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis*, 2001, 13(1): 58-61.
- [2] 邹积鑫,何雄奎,陶传红,等. 乙羧氟草醚对斑马鱼的急性毒性和生物富集性研究[J]. 农药学报, 2006, 8(4): 375-378.
ZOU Ji-xin, HE Xiong-kui, TAO Chuan-hong, et al. Acute toxicity and bio-concentration of fluoroglyphosate-ethyl to *Brachydanio rerio* [J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2006, 8(4): 375-378.
- [3] 王乙震,黄岁樑,林超,等. 五氯酚钠对鲫鱼的急性毒性:悬浮颗粒物的影响[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(4): 415-422.
WANG Yi-zhen, HUANG Sui-liang, LIN Chao, et al. Influence of suspended particles on acute toxicity of sodium pentachlorophenol to *Carassius auratus* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(4): 415-422.
- [4] 蒋玫. 大田软海绵酸对黑鲷胚胎发育及仔鱼的急性毒性[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(4): 410-414.
JIANG Mei. Acute Toxicity of Okadaic acid to the embryonic development of egg and larvae of *Sparus macrocephalus* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2011, 6(4): 410-414.
- [5] 李岩,蒋继志,刘翠芳. 微生物降解农药研究的新进展[J]. 生物学报, 2007, 24(2): 59-62.
LI Yan, JIANG Ji-zhi, LIU Cui-fang. Novel advances on pesticides degradation by microorganisms[J]. *Journal of Biology*, 2007, 24(2): 59-

- 62.
- [6] Velmurugan B, Selvanayagam M, Cengiz E I, et al. Histopathological changes in the gill and liver tissues of freshwater fish, *Cirrhinus mrigala* exposed to dichlorvos[J]. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2009, 52(5): 1291–1296.
- [7] Gomesz-Ariza J L, Santos M M, Morales E, et al. Organotin contamination in the Atlantic Ocean off the Iberian Peninsula in relation to shipping[J]. *Chemosphere*, 64(7): 1100–1108.
- [8] Orbea A, Ortiz-Zarragoitia M, Sole M, et al. Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve molluscs, crabs and fish from the Urdaibai and Plentzia estuaries (Bay of Biscay)[J]. *Aquat Toxicol*, 2002, 58: 75–78.
- [9] Ballesteros M L, Durando P E, Nores M, et al. Endosulfan induces changes in spontaneous swimming activity and acetylcholinesterase activity of *Jenynsia multidentata* (Anablepidae, Cyprinodontiformes)[J]. *Environmental Pollution*, 2009, 157(5): 1573–1580.
- [10] Brion F, Tyler C R, Palazzi X, et al. Impacts of 17 β -Estradiol including environmentally relevant concentrations, on reproduction after exposure during embryo-larval-, juvenile- and adult-life stages in Zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Aquatic Toxicology*, 2004, 68(3): 193–217.
- [11] 熊泽泉, 禹娜, 刘一, 等. 上海市河道的氮源污染物及其对食蚊鱼急性毒性的初步研究[J]. 水生态学杂志, 2009, 2(5): 19–24.
- XIONG Ze-quan, YU Na, LIU Yi, et al. Pollution and acute toxicity to the Mosquitofish of ammonia and nitrite nitrogen in urban rivers of Shanghai[J]. *Journal of Hydroecology*, 2009, 2(5): 19–24.
- [12] 赵志强, 侯宪文, 李勤奋, 等. 毒死蜱和丁硫克百威对香蕉根际土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(增刊): 98–103.
- ZHAO Zhi-qiang, HOU Xian-wen, LI Qin-fen, et al. Effects of chlorpyrifos and carbosulfan on soil enzymes activity in banana rhizosphere[J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2010, 29(Suppl): 98–103.
- [13] Plese L P M, Paraiba L C, Foloni L L, et al. Kinetics of carbosulfan hydrolysis to carbofuran and the subsequent degradation of this last compound in irrigated rice fields[J]. *Chemosphere*, 2005, 60: 149–156.
- [14] Soler C, Mañes J, Picó Y. Determination of carbosulfan and its metabolites in oranges by liquid chromatography ion-trap-triple-stage mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1109(2): 228–241.
- [15] Carla S, Hamilton B, et al. Optimization of LC-MS/MS using triple quadrupole mass analyzer for the simultaneous analysis of carbosulfan and its main metabolites in oranges[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 571: 1–11.
- [16] 王黎明, 徐冬梅, 陈波, 等. 外来污染物对土壤磷酸酶影响的研究进展[J]. 环境污染治理技术与设备, 2004, 5(5): 11–17.
- WANG Li-ming, XU Dong-mei, CHEN Bo, et al. Effects of external contaminants on soil phosphatase[J]. *Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control*, 2004, 5(5): 11–17.
- [17] Giri S, Giri A, Shama G D, et al. Mutagenic effects of carbosulfan, a carbamate pesticide[J]. *Mutation Research*, 2002, 519(1): 75–82.
- [18] Chandrasekara L W H U, Pathiratne A. Body size-related differences in the inhibition of brain acetylcholinesterase activity in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by chlorpyrifos and carbosulfan[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 67(1): 109–119.
- [19] Boran M. Acute toxicity of carbaryl, methidathion, and carbosulfan to the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Guppy (*Poecilia reticulata*)[J]. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2007, 31(1): 39–45.
- [20] 潘波, 方佳, 林勇, 等. 土壤中克百威的动态变化及其对蚯蚓的毒性[J]. 农药, 2012, 51(8): 595–598.
- PAN Bo, FANG Jia, LIN Yong, et al. The Dynamic changes and toxicity to earthworms of carbofuran in soil[J]. *Agrochemicals*, 2012, 51(8): 595–598.