

腐植酸影响扑草净对斑马鱼的急性毒性研究

赵倩, 王灿灿, 袁旭姣, 朱琳*

(南开大学环境科学与工程学院, 污染过程与环境基准教育部重点实验室, 天津市城市生态环境修复与污染防治重点实验室, 天津 300071)

摘要: 腐植酸(HA)是水环境中一类重要的溶解性有机质, 它能影响有机污染物对生物的急性毒性。以除草剂扑草净(Prometryn)作为目标污染物, 模式生物斑马鱼(*Danio rerio*)作为受试生物, 研究了扑草净对斑马鱼的 96 h 急性毒性以及 HA 存在下其对斑马鱼的毒性变化情况。结果显示, 扑草净对斑马鱼的 96 h 半致死浓度(96 h LC_{50})为 $7.448 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 95%置信区间为 $(7.032 \sim 7.971) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HA 对扑草净的毒性没有显著影响, 但当扑草净浓度为 8.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HA 增加了其对斑马鱼的 96 h 累积死亡率, 较同样扑草净浓度下无 HA 组高出 40%。研究表明在较高扑草净浓度下, 15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ HA 能增加其对斑马鱼的急性毒性, 这可能是由于较高浓度(大于 LC_{50} 值)的扑草净与 HA 共存时, 减少污染物毒性的络合机制被其他能够引起毒性增加的机制所掩盖。

关键词: 腐植酸; 扑草净; 急性毒性; 斑马鱼

中图分类号: X592 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2015)04-0653-07 doi:10.11654/jaes.2015.04.007

Influence of Humic Acid on Acute Toxicity of Prometryn to *Danio rerio*

ZHAO Qian, WANG Can-can, YUAN Xu-jiao, ZHU Lin*

(Key Laboratory of Pollution Processes and Environmental Criteria, Tianjin Key Laboratory of Environmental Remediation and Pollution Control, College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: Humic acid (HA) is a principal component of dissolved organic matters in all aquatic ecosystems. It comprises of a variety of molecular structures and functional groups and can bind pollutants in the water, thereby affecting the pollutant toxicity to aquatic organisms. In this study, a triazine herbicide prometryn, commonly present in the surface and ground water, was chosen as the target pollutant and a model organism zebrafish (*Danio rerio*) as the target organism. The aim of this study was to investigate the acute toxicity of prometryn to *Danio rerio* at 5 and 15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ HA concentrations. Under single prometryn exposure, the 24 h, 48 h, 72 h, and 96 h median lethal concentrations (LC_{50}) of prometryn to *Danio rerio* were 9.143, 8.432, 7.645, and $7.448 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and 95% confidence intervals were 8.635~9.861, 7.408~9.934, 7.041~8.310, and $7.032 \sim 7.971 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. Based on these acute toxic experiment results, prometryn had the high toxicity to *Danio rerio*. In addition, 96 h cumulative mortality rate of *Danio rerio* did not change obviously with 5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ HA when the concentrations of prometryn were 6.5, 7.5, and 8.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. In contrast, the same toxicological parameter became 40% higher at 15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ HA than HA-free when prometryn concentration was 8.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. It was shown that HA can increase the acute toxicity under higher prometryn concentrations. This might be explained by a hypothesis that the association of prometryn with DOM reducing its toxicity might be overshadowed by other mechanisms actually enhancing its toxicity in water.

Keywords: humic acid(HA); prometryn; acute toxicity; zebrafish(*Danio rerio*)

三氮苯类除草剂是目前国内外广泛使用的选择性内吸收传导型除草剂, 可防除一年生禾本科杂草和阔叶杂草及某些多年生恶性杂草。扑草净(2-甲硫基-4, 6-双异丙氨基均三氮苯, Prometryn)是三氮苯

类除草剂中常见的一种, 主要通过抑制植物的电子传输来影响植物的光合作用, 从而达到除草的作用。在水产养殖业中也被频繁应用, 主要用于清除鱼、虾、蟹、贝、海参等养殖水体中的丝状藻类(如浒苔)、大型草类及其他有害藻类。扑草净在欧洲已于 2004 年被禁用^[1], 但由于它毒性低、杀草谱广, 目前中国^[2]、美国、加拿大、新西兰、南非还在广泛使用^[3]。

扑草净在环境中比较稳定, 半衰期为 13 个月, 其较长的残效期, 更容易在环境中残留并造成危害。

收稿日期: 2014-11-18

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2012ZX07501-003)

作者简介: 赵倩(1986—), 女, 河南柘城人, 博士研究生, 研究方向为生态毒理学。E-mail: zqtalent@163.com

* 通信作者: 朱琳 E-mail: zhulin@nankai.edu.cn

有学者对渤海某海域 60 个站点海水分析后发现, 扑草净的检出率为 100%^[4]; 上海某河水中也检测出扑草净, 其浓度高达 7.12~0.54 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[5]。马晓雁等^[6]检测了上海某水厂(该水厂以黄浦江水为原水)中扑草净的平均浓度, 结果表明 4 月扑草净的浓度最高, 达到 1.25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。有报道显示捷克的河流中扑草净的浓度为 0.51 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[7], 希腊的地表水中扑草净的范围在 0.91~4.40 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 而在地下水中超过 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[8]。可见, 扑草净在环境中不仅残留时间长, 而且分布较为广泛。扑草净进入环境后会对非靶细胞生物造成影响。研究发现扑草净对月牙藻(*Selenastrum capricornutum*)的 5 d EC₅₀ 为 0.023 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[9], 对浮萍(*Lemna minor*)的 24 h EC₅₀ 为 0.083 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 对轮藻(*Chara canescens*)的 24 h LC₅₀ 为 0.071 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[10]。李雪芹等^[11]发现扑草净对蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)的 EC₅₀ 为 0.16 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 并且在低浓度(0.01 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)下对蛋白核小球藻表现出一定的刺激生长效应, 而随扑草净浓度的增加, 抑制生长作用增强, 藻体内丙二醛含量急剧升高。Jiang 等^[12]发现扑草净能够抑制小麦的生长, 表现为扑草净(4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)能够导致叶绿素含量的大幅度降低, 植物体脂质过氧化水平升高。

可溶性有机质(DOM)通常被定义为能够透过 0.45 μm 滤膜, 且在以后的分析过程中不因蒸发而丢失的有机物质。在表面水体中的浓度(按溶解性有机碳 DOC 计)为 1~15 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[13]。也有报道称天然水体中 DOM 的浓度范围为 1~40 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 江河中平均可达 7 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。腐植酸(Humic acid, HA)是 DOM 的主要组成部分^[14], 在水环境中普遍存在, 它不仅能对生物产生直接影响^[15], 还能够通过改变有机污染物的生物有效性间接影响生物。Cánepa 等^[16]以胆碱酯酶活性作为生物标志物, 研究了在不同浓度(5、20、60 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)HA 存在条件下杀螟硫磷对双脐螺(*B. glabrata*)的影响, 发现在 20、60 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ HA 条件下, 杀螟硫磷处理组双脐螺体内胆碱酯酶的活性与空白组近似, 说明该条件下高浓度 HA 的存在没有使杀螟硫磷的可利用性增

加。扑草净的检测手段、在土壤和水环境中的吸附解吸^[17]以及它对植物的影响^[11-12]已有报道, 而其对斑马鱼(*Danio rerio*)的毒性以及 HA 的存在对其毒性的影响未见报道。本研究考察了扑草净对斑马鱼的毒性, 以及 HA 对扑草净毒性的影响, 为评价扑草净对水生生物乃至非靶标生物的潜在威胁提供理论依据, 对更好地控制和预测环境中扑草净污染情况具有重要意义。同时, 以丙二醛(MDA)为测定指标, 研究 HA 对斑马鱼的直接影响, 并选择紫外-可见光吸收光谱法对扑草净和 HA 进行定性分析, 探索 HA 影响扑草净对斑马鱼毒性的原因。

1 材料与方法

1.1 受试生物

斑马鱼, 购自天津市安琪花鸟虫鱼市场。斑马鱼为成鱼, 平均体长 2.9 cm, 平均体重 0.13 g。实验用水为充分曝气脱氯的自来水, pH7.9, 温度(24±2)℃。在实验室水族缸内驯养 14 d 以上, 每 3 d 喂食一次, 及时清理缸底粪便, 试验前 24 h 停止喂食, 驯养期间自然死亡率<1%。驯养过程中去除受伤、体色异常、畸形个体, 选择生长良好的鱼作为试验鱼, 雌雄不限。

1.2 试验方法

试验用水为曝气一周以上的自来水, 采用自然光照。每个处理设置 2 个重复, 处理系列均采用 5 L 烧杯盛 2 L 溶液, 每个烧杯中放入 10 条斑马鱼, 试验期间轻微曝气, 周期为 96 h。试验前将烧杯用 2% (质量分数)KMnO₄ 消毒。

扑草净(表 1, 纯度>97%, 浙江省中山进出口有限公司)储备液以丙酮为助溶剂, 45℃超声 30 min 后, 过 0.45 μm 有机滤膜, 现配现用。标准曲线用扑草净标样(纯度>99%, Aladdin)配置。

HA 购自美国 Sigma-Aldrich 公司, CAS 号为 1415-93-6, 它的提取来源是褐煤, 主要组成元素的质量百分含量和原子比等理化值见表 2。称取 2 g 腐

表 1 扑草净的性质

Table 1 Properties of prometryn

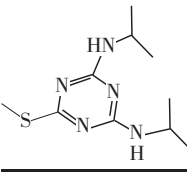
分子式 Molecular formula	原药性状 Character	熔点/℃ Melting point	溶解度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Solubility	$\lg K_{ow}$	半衰期/d Half-life period	分子量/Da Molecular Weight	蒸气压/mPa Vapour pressure
	白色晶体	118~120	33(25℃)	2.99 ^[18]	390	241.35 ^[19]	0.13(20℃)

表 2 HA 的元素质量百分含量和原子比等理化值^[20]
Table 2 Elemental percent contents and atomic ratios of humic acid

C	H	N	C/N	H/C	羧基含量 Carboxyl content/mol·kg ⁻¹	酚羟基含量 Phenolic hydroxyl content/mol·kg ⁻¹	E ₄ /E ₆
41.27	3.18	0.90	45.86	0.08	0.95	2.89	10.74

注:E₄/E₆是紫外波长 465 nm 和 665 nm 处的吸光度比值。
Note:E₄/E₆ is the ratio of ultraviolet absorbance at 465 nm and 665 nm wavelength.

植酸于 2 L 蒸馏水中, 搅拌 24 h, 3500 r·min⁻¹ 离心 10 min 后, 取上清液过 0.45 μm 滤膜。测定该溶液的总有机碳 TOC (Analytik jenamulti N/C 3100) 浓度, 用该浓度 (mg C·L⁻¹) 表示腐植酸浓度。

1.2.1 急性毒性实验

1.2.1.1 扑草净对斑马鱼的急性毒性

为保证试验水体中扑草净浓度维持基本稳定, 利用高效液相色谱测定 10 mg·L⁻¹ (对斑马鱼的 100% 致死浓度) 扑草净在曝气条件下 96 h 前后的浓度, 结果显示浓度仅减少了 0.26%, 因此可以采用静态方式进行此急性毒性实验。根据预实验, 得到扑草净对斑马鱼的急性毒性耐受范围为 0~10 mg·L⁻¹, 在此范围内设置 0 (CK 小于 0.1% 的丙酮)、3、4、5、6、7、8、9、10 mg·L⁻¹ 共 9 个扑草净浓度水平。

1.2.1.2 腐植酸对扑草净毒性的影响

各浓度组设定见表 3, 同时设置 0.1% 的丙酮助溶剂、15 mg·L⁻¹ HA 对照和空白组。待各浓度组溶液混匀平衡 48 h 后放入斑马鱼, 实验期间及时去除死亡鱼体, 称重记录。

表 3 腐植酸与扑草净的浓度处理
Table 3 Concentration treatments of HA and prometryn

I 组	II 组	III 组
P _{6.5}	P _{7.5}	P _{8.5}
P _{6.5} +HA ₅	P _{7.5} +HA ₅	P _{8.5} +HA ₅
P _{6.5} +HA ₁₅	P _{7.5} +HA ₁₅	P _{8.5} +HA ₁₅

注:P_x表示试验溶液中含有 x mg·L⁻¹ 扑草净, HA_y表示试验溶液中含 y mg·L⁻¹ 腐植酸。
Note:P_x indicates x mg·L⁻¹ prometryn in solution, and HA_y is y mg·L⁻¹ HA in solution.

1.2.2 HA 对斑马鱼的急性毒性

配置 0、5、15 mg·L⁻¹ HA 溶液, 容器为 1 L 的烧杯, 设置 2 个重复, 每个烧杯中放 5 条斑马鱼, 其他条件与上述急性毒性试验相同。96 h 后测定试验溶液的电导率及鱼体内 MDA 浓度。

1.2.3 紫外-可见光吸收分析

按照 1.2.1.2 中毒性试验的梯度设置配制各组溶液及 5、15 mg·L⁻¹ HA 溶液, 以双蒸水作为对照, 平衡

48 h 后, 将样品置于 1 cm 的石英比色皿中, 在 200~420 nm 范围内全扫描。此分析在 TU-1901 双光束紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司) 上完成。

1.2.4 测定方法

MDA 的测定方法: 将斑马鱼活体解剖, 在冰浴条件下按 1:9 (鱼体质量/0.86% 生理盐水体积) 的比例加入预冷的生理盐水, 在预先冷冻过的玻璃匀浆器中匀浆, 制备成 10% 的组织液。组织液在 4 ℃、2500 r·min⁻¹ 条件下离心 (Hettich Mikro 200R, 德国) 15 min, 取上清液备用。采用硫代巴比妥酸法 (TBA 法, 南京建成公司试剂盒) 测定斑马鱼体内 MDA 浓度; 蛋白质含量采用考马斯亮蓝法测定。

扑草净的测定方法: 采用 Waters 高效液相色谱 [Waters 1525 Binary HPLC Pump, Waters 2487 Dualλ-Absorbance Detector, Venusil XBP C18-L (4.6 mm×250 mm)] 对水溶液中扑草净浓度进行分析, 流动相为 75:25 (V/V) 的甲醇/超纯水溶液, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 220 nm, 柱温为室温, 进样量 20 μL, 保留时间为 8.83 min。

1.3 数据处理

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析, 显著性分析采用单因素方差分析, 用 Origin 8.5 作图。

2 结果与分析

2.1 斑马鱼中毒症状

试验开始前 10 h 连续观察不同染毒浓度下斑马鱼的中毒症状。观察结果显示在扑草净为 7、8、9、10 mg·L⁻¹ 浓度组, 斑马鱼表现出先快速窜动, 随后开始侧卧不动、侧身游动、游动迟缓、头向下游动、身体旋转游动等异常行为, 最后或逐渐适应水体继续存活, 或因无法适应而死亡。这些异常行为在染毒浓度较高的处理组, 出现的时间较早。而在扑草净 3、4、5、6 mg·L⁻¹ 浓度下, 鱼体的中毒症状较轻, 与空白组没有明显差别。

2.2 扑草净对斑马鱼的急性毒性

扑草净对斑马鱼的 96 h LC₅₀ 为 7.488 mg·L⁻¹ (表

4), 参照国家环保局制订的《生物技术监测规范(水环境部分)》, 扑草净对斑马鱼的毒性属于高毒。对照组中斑马鱼的死亡率为 0。

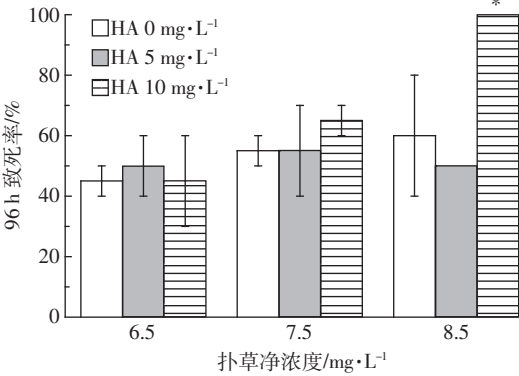
表 4 扑草净对斑马鱼 96 h LC₅₀ 值及 95% 置信区间
Table 4 96 h LC₅₀ of prometryn for zebrafish and 95% confidence intervals

致毒时间 Time/h	LC ₅₀ /mg·L ⁻¹	95% 置信区间 95% confidence intervals
24	9.143	8.635~9.861
48	8.432	7.408~9.934
72	7.645	7.041~8.310
96	7.488	7.032~7.971

2.3 HA 对扑草净毒性的影响

HA 存在下, 当扑草净浓度为 6.5 mg·L⁻¹ 和 7.5 mg·L⁻¹ 时, 斑马鱼的 96 h 致死率没有显著性差异($P < 0.05$)。在 P_{8.5}+HA₁₅ 实验组斑马鱼的致死率达到 100%, 而 P_{8.5} 和 P_{8.5}+HA₅ 组的死亡率分别为 60% 和 50%(图 1)。0.1% 的丙酮助溶剂及 HA₁₅ 对照组中斑马鱼没有死亡。

在以下表述中 P_{6.5}、P_{6.5}+HA₅、P_{6.5}+HA₁₅ 为 I 组, P_{7.5}、P_{7.5}+HA₅、P_{7.5}+HA₁₅ 为 II 组, P_{8.5}、P_{8.5}+HA₅、P_{8.5}+HA₁₅ 为 III 组。I 组在 72~96 h 累积死亡率增加较快, 96 h 累积死亡率较 72 h 时高出 30%~35%; II 和 III 组较早进入快速死亡期(48~72 h), 72 h 累积死亡率较 48 h 时高出 30%~40% 和 20%~80%(图 2)。另外, 在 I 组中, HA 对扑草净毒性的影响不大, 而随着扑草净浓度的升高, HA 对扑草净毒性的影响逐渐增大, 并且这一过程在染毒的 72 h 最为显著。



* 表示不同处理组间差异显著($P < 0.05$)

*Indicates significant differences between treatments($P < 0.05$)

图 1 HA 存在下扑草净对斑马鱼的 96 h 致死率

Figure 1 Cumulative mortality of prometryn to zebrafish under HA presence

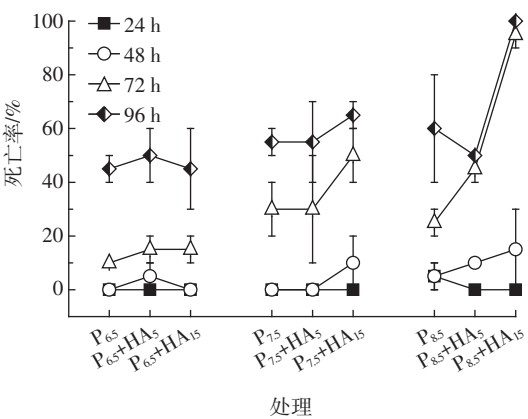


图 2 HA 存在下扑草净对斑马鱼的累积致死率

Figure 2 Cumulative mortality of prometryn to zebrafish with and without HA

3 讨论

扑草净对斑马鱼的 96 h LC₅₀ 为 7.488 mg·L⁻¹, 95% 置信区间为 7.032~7.971 mg·L⁻¹。这与扑草净对鲤鱼(*Cyprinus carpio*)的 96 h LC₅₀(8 mg·L⁻¹)^[21]毒性数据相似, 可能是由于斑马鱼和鲤鱼均属于鲤科种类的原因。扑草净对杂色鲮(*Cyprinodon variegatus*)和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)的 96 h LC₅₀ 分别为 5.1 mg·L⁻¹^[3]和 2.9 mg·L⁻¹^[9], 低于斑马鱼的 96 h LC₅₀, 可能是由物种之间的差异、生物体大小不同等因素所致。

HA 是水体中一类重要的溶解性有机质(DOM), 含有一系列功能团, 如羟基、羧基、酚羟基、烯醇羟基等, 会对疏水性有机污染物在环境中的行为产生重要影响。研究表明 HA 能改变污染物在生物体内的富集、急性毒性和抗氧化能力^[22-23]。曹璐等^[22]研究发现低浓度 HA(0~2 mg·L⁻¹)与 0.5 mg·L⁻¹ 四溴双酚 A 共存条件下, HA 降低了四溴双酚 A 在金鱼藻中的富集。Wiegand 等^[23]研究了三种 DOM(5、25 mg·L⁻¹)存在条件下, 带丝蚓(*Lumbriculus variegatus*)对百草枯的富集, 结果表明随着 DOM 浓度的升高, 百草枯在带丝蚓体内的富集量减少, 这是由于 DOM 与百草枯形成了电荷转移复合物或是离子捆绑导致电荷中和, 从而降低了百草枯的生物可利用性。徐盈等^[24]发现一定浓度的 HA 能够降低甲氰菊酯的生物可利用性及其对草鱼的急性毒性, 而且在 HA 浓度为 10 mg·L⁻¹ 时这种影响比 5 mg·L⁻¹ 时更大。而本研究并未得到类似结果, 虽然 5 mg·L⁻¹ HA 对扑草净的毒性影响不大, 但当扑草净浓度大于或等于 96 h LC₅₀(7.488 mg·L⁻¹) 时, 15 mg·L⁻¹ HA 的存在增加了扑草净的毒性, 并且这一结果在 48~72 h 表现最显著。这与 Meems 等^[25]

的研究结果有相似之处,他们发现在两种低浓度($5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的 DOM(天然有机质和合成腐殖质 HS1500)存在时,能降低氯氰菊酯对大型蚤 (*Daphnia magna*) 的毒性,而在 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度时含有合成腐殖质 HS1500 组比没有 DOM 存在时大型蚤活动抑制的比率增加 50%。Oikari 等^[26]采集 5 种天然水作为不同浓度和性质的 DOM 来源(浓度为 $4.6 \sim 20.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),发现在这些 DOM 存在条件下,氰戊菊酯对大型蚤的 48 h 急性毒性效应均增加。另外,还发现在 $20.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ DOM(采自 Lake Louhikampi)存在时,林丹和氰戊菊酯对大型蚤的 48 h 急性毒性效应分别增加了 4.6、3.6 倍。本试验中 HA 增加扑草净毒性可能是由于 DOM 降低污染物生物可利用性的能力仅在低污染物浓度下显示出作用,而并非在高浓度下。因此,在较高浓度的扑草净(大于 LC_{50} 值)与 DOM 共存时,减少污染物毒性的络合机制被其他能够引起毒性增加的机制所掩盖,例如 DOM 中含有的醌型和芳香族结构会提高生物体内抗氧化酶的活性,已有研究发现天然 DOM 可以引起生物体内谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)和氧化物酶(POD)的升高^[25,27],而这些活性物质可能会调节污染物在生物体内的代谢,从而增加污染物的毒性。另外,DOM 可能会促进毒物更快进入生物体内,表现为更早出现死亡。Steinberg 等^[28]曾假设 DOM 可能会通过干扰细胞膜的通透性来增加在鱼体内的富集。

有研究报道 DOM 对多种水生生物有不利影响^[29],如其诱导热休克蛋白^[23]、激活谷胱甘肽-S-转移酶(sGST)^[30]和细胞色素氧化酶(CYP1A)^[31]或改变生物行为等。Wiegand 等^[23]发现三种不同来源的天然 DOM 在 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时不能使带丝蚓(*L. variegates*)体内 sGST 增加,而在 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 sGST 较不含 DOM 组明显增

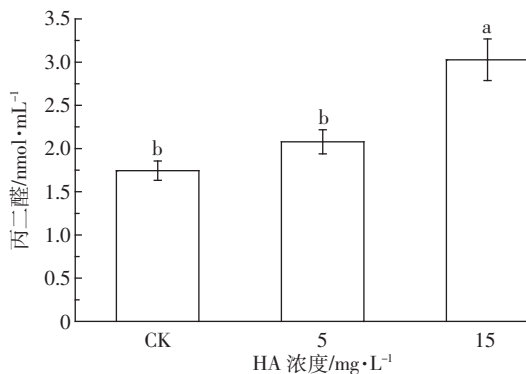


图 3 HA 对斑马鱼体内丙二醛的影响

Figure 3 Effect of HA on MDA in zebrafish

加,同时两个浓度均能引起带丝蚓体内过氧化氢酶和热休克蛋白水平的明显增加。此外, $1, 5, 10, 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ DOM(天然可溶性有机质 SR NOM 和人工合成有机质 HS1500)的存在均能引起大型蚤(*Daphnia magna*)体内 sGST 的显著性增加^[25]。在 HA 对斑马鱼的 96 h 急性毒性试验中, $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HA 增加了斑马鱼体内 MDA 浓度,并且与空白组有显著性差异, $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ HA 组则与空白组无明显差异(图 3)。这一结果与扑草净和 HA 共存对斑马鱼的毒性结果相对应。

有机化合物的紫外-可见光吸收光谱(Uv-Vis)常被用作结构分析的依据。在 $225 \sim 320 \text{ nm}$ 波长范围内扑草净单独存在组以及 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ HA 存在的各组中,溶液的吸光度随扑草净浓度的增加而增加,即扑草净引起了 HA 吸收峰发生红移效应(图 4)。张芹等^[32]研究发现吸收峰的红移效应可能与化合物分子间的结合相关。扑草净与 HA 共存产生的结合作用可能与毒性增加的结果有关,具体机制有待进

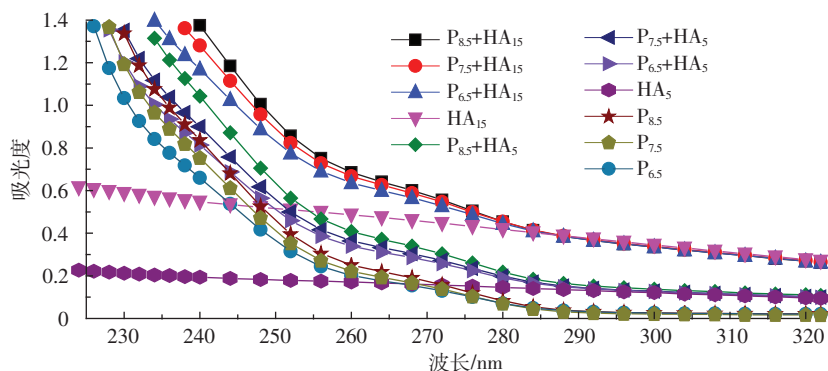


图 4 扑草净和扑草净-HA 在水溶液中的紫外-可见光吸收光谱图

Figure 4 Uv-Vis absorption of prometryn and prometryn-HA solution

一步研究。本文只考虑了 HA 存在下扑草净对斑马鱼的急性毒性,在未来的研究中将考虑 HA 影响扑草净对斑马鱼的慢性毒性,例如 HA 存在下扑草净对斑马鱼体内相应功能酶及扑草净在斑马鱼体内的富集变化情况等。

4 结论

(1)扑草净对斑马鱼的 96 h LC_{50} 为 $7.448 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 95%置信区间为 $7.032 \sim 7.971 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。表明扑草净对斑马鱼的毒性属于高毒,对其他水生生物也存在潜在危害。

(2)在 HA 影响扑草净对斑马鱼急性毒性的试验中, I 组(P_{65} , $P_{65}+HA_5$ 和 $P_{65}+HA_{15}$)、II 组($P_{7.5}$, $P_{7.5}+HA_5$ 和 $P_{7.5}+HA_{15}$)和 III 组($P_{8.5}+HA_{15}$, $P_{8.5}$ 和 $P_{8.5}+HA_5$)中 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ HA 对扑草净的毒性没有显著性影响,而在 III 组中, $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ HA 能够显著增加扑草净对斑马鱼的急性毒性。另外, II 组和 III 组进入快速死亡期(48~72 h)的时间比 I 组(72~96 h)早,也表明在较高浓度扑草净条件下,HA 对毒性的影响机制有所不同。

参考文献:

- [1] Zhou J H, Hu F, Jiao J G, et al. Effects of bacterial-feeding nematodes and prometryne-degrading bacteria on the dissipation of prometryne in contaminated soil[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2012, 12(4): 576-585.
- [2] Zhou J H, Chen J D, Cheng Y H, et al. Determination of prometryne in water and soil by HPLC-UV using cloud-point extraction[J]. *Talanta*, 2009, 79(2): 189-193.
- [3] Kegley S, Hill B, Orme S, et al. PAN pesticide database//Pesticide action network, North America (San Francisco) [DB/OL]. [2014]. <http://www.Pesticideinfo>.
- [4] 任传博, 田秀慧, 张华威, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定海水中 13 种三嗪类除草剂残留量[J]. *质谱学报*, 2013, 34(6): 353-361.
REN Chuan-bo, TIAN Xiu-hui, ZHANG Hua-wei, et al. Determination of triazine herbicides in seawater using solid phase extraction-UPLC-MS/MS[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2013, 34(6): 353-361.
- [5] 李竺, 陈玲, 郇洪文, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定环境水样中的三嗪类化合物[J]. *色谱*, 2006, 24(3): 267-270.
LI Zhu, Chen Ling, Gao Hong-wen, et al. Determination of Triazines in surface water using solid phase extraction-high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2006, 24(3): 267-270.
- [6] 马晓雁, 高乃云, 李青松, 等. 黄浦江原水及水处理过程中内分泌干扰物状况调查[J]. *中国给水排水*, 2006, 22(19): 1-4.
MA Xiao-yan, GAO Nai-yun, LI Qing-song, et al. Investigation of several endocrine disrupting chemicals in Huangpu river and water treatment units of waterworks[J]. *China Water & Wastewater*, 2006, 22(19): 1-4.
- [7] Stara A, Kristan J, Zuskova E, et al. Effect of chronic exposure to prometryne on oxidative stress and antioxidant response in common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2013, 105(1): 18-23.
- [8] Vryzas Z, Alexoudis C, Vassiliou G, et al. Determination and aquatic risk assessment of pesticide residues in riparian drainage canals in north-eastern Greece[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2011, 74(2): 174-181.
- [9] Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. R. E. D. Facts Prometryn[R]. USEPA, 1996.
- [10] Küster A, Altenburger R. Development and validation of a new fluorescence-based bioassay for aquatic macrophyte species[J]. *Chemosphere*, 2007, 67(1): 194-201.
- [11] 李雪芹, 徐礼根, 马建义. 扑草净和渗透剂 OT 对蛋白核小球藻的联合毒性[J]. *中国环境科学*, 2005, 25(4): 432-436.
LI Xue-qin, XU Li-gen, MA Jian-yi. Combination toxicity of prometryne and permeating agent on *Chlorella pyrenoidosa* [J]. *China Environmental Science*, 2005, 25(4): 432-436.
- [12] Jiang L, Ma L, Sui Y, et al. Effect of manure compost on the herbicide prometryne bioavailability to wheat plants[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 184(1): 337-344.
- [13] Thurman E M. Organic geochemistry of natural waters[M]. Boston: Springer, 1985.
- [14] Hu X G, Mu L, Kang J, et al. Humic acid acts as a natural antidote of graphene by regulating nanomaterial translocation and metabolic fluxes in vivo[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(12): 6919-6927.
- [15] Fabian N J, Albright L B, Gerlach G, et al. Humic acid interferes with species recognition in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2007, 33(11): 2090-2096.
- [16] Cánepa A, Basack S B, Casabé N B, et al. Combined effects of technical grade fenitrothion, humic acids and particulate matter on cholinesterase activity in freshwater invertebrates[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, 13(4): 775-782.
- [17] Laird D A, Yen P Y, Koskinen W C, et al. Sorption of atrazine on soil clay components[J]. *Environmental Science & Technology*, 1994, 28(6): 1054-1061.
- [18] Kaune A, Brüggemann R, Kettrup A, et al. High-performance liquid chromatographic measurement of the 1-octanol-water partition coefficient of triazine herbicides and some of their degradation products[J]. *Journal of Chromatography A*, 1998, 805(1): 119-126.
- [19] Plakas K V, Karabelas A J, et al. A systematic study on triazine retention by fouled with humic substances NF/ULPRO membranes[J]. *Separation and Purification Technology*, 2011, 80(2): 246-261.
- [20] 宋康, 符志友, 赵晓丽, 等. 腐植酸对针铁矿吸附磷的影响机理[J]. *环境科学研究*, 2012, 25(8): 904-910.
SONG Kang, FU Zhi-you, ZHAO Xiao-li, et al. Mechanism of humic

- acid influence on the adsorption of phosphate on goethite[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2012, 25(8):904-910.
- [21] Popova G V. Characteristics of the effect of the herbicide prometryn on fish[J]. *Nauchnye Osnovy Okhrany Prirody*, 1976, 4:118-125.
- [22] 曹璐, 孙媛媛, 王晓蓉, 等. 腐植酸对四溴双酚 A 在金鱼藻体内的富集及氧化胁迫的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(3):476-480.
- CAO Lu, SUN Yuan-yuan, WANG Xiao-rong, et al. Effect of humic acid on bioaccumulation and oxidative stress induced by tetrabromobisphenol A in Coontail *Ceratophyllum demersum* L.[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(3):476-480.
- [23] Wiegand C, Pehkonen S, Akkanen J, et al. Bioaccumulation of paraquat by *Lumbriculus variegatus* in the presence of dissolved natural organic matter and impact on energy costs, biotransformation and antioxidative enzymes[J]. *Chemosphere*, 2007, 66(3):558-566.
- [24] 徐盈, 吴文忠, 张甬元. 水体腐植酸对甲氰菊酯的生物可利用性与急性毒性的影响[J]. *水生生物学报*, 1996, 20(2):160-163.
- XU Ying, WU Wen-zhong, ZHANG Yong-yuan. Effect of humic acid on biological availability and acute toxicity induced by fenprothrin [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1996, 20(2):160-163.
- [25] Meems N, Steinberg C, Wiegand C. Direct and interacting toxicological effects on the waterflea (*Daphnia magna*) by natural organic matter, synthetic humic substances and cypermethrin[J]. *Science of the Total Environment*, 2004, 319(1):123-136.
- [26] Oikari A, Kukkonen J, Virtanen V. Acute toxicity of chemicals to *Daphnia magna* in humic waters[J]. *Science of the Total Environment*, 1992, 117:367-377.
- [27] Pflugmacher S, Spangenberg M, Steinberg C. Dissolved organic matter (DOM) and effects on the aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* in relation to photosynthesis, pigment pattern and activity of detoxication enzymes[J]. *Angewandte Botanik*, 1999, 73:184-190.
- [28] Steinberg C, Mayr C, Lorenz R, et al. Dissolved humic material amplifies irritant effects of terbutylazine (triazine herbicide) on fish[J]. *Naturwissenschaften*, 1994, 81(5):225-227.
- [29] Petersen J R, Persson U. Comparison of the biological effects of humic materials under acidified conditions[J]. *Science of the Total Environment*, 1987, 62:387-398.
- [30] Timofeyev M A, Wiegand C, Burnison B K, et al. Impact of natural organic matter (NOM) on freshwater amphipods[J]. *Science of the Total Environment*, 2004, 319(1):115-121.
- [31] Matsuo A Y, Woodin B R, Reddy C M, et al. Humic substances and crude oil induce cytochrome P450 1A expression in the Amazonian fish species Tambaqui (*Colossoma macropomum*) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(8):2851-2858.
- [32] 张芹, 李航. 农药与土壤腐植酸相互作用的紫外光谱分析[J]. *西南师范大学学报(自然科学版)*, 2008, 33(2):87-92.
- ZHANG Qin, LI Hang. Study on the interaction of pesticide and soil humic acid by UV/Vis spectroscopy[J]. *Journal of Southwest China Normal University(Natural Science Edition)*, 2008, 33(2):87-92.