

殷鸿洋, 赵 远, 郑 义, 等. 杀螟丹、螺虫乙酯和铜镉二元复合污染的联合毒性[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(9): 2080–2085.

YIN Hong-yang, ZHAO Yuan, ZHENG Yi, et al. Joint toxicity of binary complexes of cartap, spirotetramat, copper, and cadmium to *Vibrio fischeri*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(9): 2080–2085.

杀螟丹、螺虫乙酯和铜镉二元复合污染的联合毒性

殷鸿洋^{1,2}, 赵 远¹, 郑 义³, 保 聪^{2,4}, 黄新新⁵, 丁英杰², 蔡 强^{2*}

(1. 常州大学环境与安全工程学院, 江苏 常州 213164; 2. 浙江清华长三角研究院, 浙江 嘉兴 314006; 3. 江苏农牧科技职业学院, 江苏 泰州 225300; 4. 瓦赫宁根大学海洋动物生态组, 荷兰 6708WD; 5. 上海出入境检验检疫局动植物与食品检验检疫技术中心, 上海 200135)

摘 要: 针对农业活动中广泛使用的杀螟丹、螺虫乙酯和常见重金属污染物铜、镉, 以费氏弧菌为受试生物研究污染物并存状态下的联合毒性。通过研究在不同暴露时间下二元复合污染对费氏弧菌的急性毒性效应, 计算半数效应浓度 EC_{50} , 并采用混合毒性指数法评价联合毒性。研究表明, 铜、镉、杀螟丹、螺虫乙酯单一暴露于费氏弧菌 15 min 的 EC_{50} 分别为 0.53、0.74、79.06 $mg \cdot L^{-1}$ 和 116.67 $mg \cdot L^{-1}$ 。杀螟丹和重金属的混合体系对费氏弧菌的联合毒性主要表现为相加作用, 当螺虫乙酯在混合体系中占比较低时, 也表现为部分相加作用。杀螟丹和螺虫乙酯能够减缓金属离子进入细胞的速率, 因此费氏弧菌急性毒性实验研究联合毒性时, 暴露时间应延长至 45 min 以上。

关键词: 重金属; 农药; 费氏弧菌; 急性毒性; 联合毒性评价

中图分类号: X171.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2019)09-2080-06 doi:10.11654/jaes.2018-1601

Joint toxicity of binary complexes of cartap, spirotetramat, copper, and cadmium to *Vibrio fischeri*

YIN Hong-yang^{1,2}, ZHAO Yuan¹, ZHENG Yi³, BAO Cong^{2,4}, HUANG Xin-xin⁵, DING Ying-jie², CAI Qiang^{2*}

(1. College of Environment & Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China; 2. Zhejiang Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University, Jiaxing 314006, China; 3. Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, China; 4. Wageningen University, Marine Animal Ecology Group, De Elst 1, Wageningen 6708WD, The Netherlands; 5. Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Technology Center Animal, Plant and Food Inspection and Quarantine, Shanghai 200135, China)

Abstract: In view of the widespread use of cartap, spirotetramat, and common heavy metal pollutants, such as copper and cadmium in agricultural activities, the joint toxicity of their complexes on *Vibrio fischeri* was studied. The EC_{50} (median effective concentration) was calculated with the acute toxic effects of binary complex contamination on *Vibrio fischeri* employing different exposure times. The Mixtures Toxicity Index method was employed to evaluate the joint toxicity. The acute toxicity experiments showed that the EC_{50} of copper, cadmium, cartap, and spirotetramat on *Vibrio fischeri* at 15 mins was 0.53, 0.74, 79.06 $mg \cdot L^{-1}$, and 116.67 $mg \cdot L^{-1}$, respectively. The joint toxicity of cartap and heavy metals on *Vibrio fischeri* was mainly additive. When the spirotetramat accounted for a low proportion in the binary mixtures, the joint toxicity was partially additive. The presence of cartap and spirotetramat may slow down the rate of metal ions entering the cell. Therefore, the study of exposure time for joint toxicity on *Vibrio fischeri* should be extended to 45 mins.

Keywords: heavy metals; pesticide; *Vibrio fischeri*; acute toxicity; joint toxicity evaluation

收稿日期: 2018-12-18 录用日期: 2019-04-02

作者简介: 殷鸿洋(1994—), 女, 江苏常州人, 硕士研究生, 主要研究方向为生态毒理学。E-mail: 13585359845@163.com

*通信作者: 蔡 强 E-mail: caiq@mail.tsinghua.edu.cn

基金项目: 国家重点研发项目(2017YFC1700800); 广东省省级科技计划项目(2017A020217009); 嘉兴市科技计划项目(2017AY33082)

Project supported: The National Key Research and Development Projects(2017YFC1700800); Project for Science and Technology Program of Guangdong Province(2017A020217009); Project for Science and Technology Program of Jiaxing(2017AY33082)

随着工农业发展,重金属的排放和农药的使用对环境和生物造成了严重的影响。原环境保护部和国土资源部发布的全国土壤污染状况调查公报显示,镉、铜污染物点位超标率分别为7.0%和2.1%^[1]。虽然铜是生命体生长发育所必需的微量元素,但是过量的铜会对动植物体产生毒害作用,镉则有明显的毒害作用^[2]。铜、镉等重金属污染一旦进入环境和生物体内则难以降解^[3-4]。我国是农业大国,农药的使用量居世界第一,每年达50~60万t,最终进入环境的农药达使用量的80%~90%^[5]。虽然可以使用中低毒的农药代替剧毒、高残留农药,但是低毒农药对环境中的生物仍存在毒性影响。在我国,中低毒农药杀螟丹和螺虫乙酯都是最常用的杀虫剂^[6-7],用于农业害虫防治的杀螟丹对鱼类胚胎毒性较高^[8],螺虫乙酯则会对水生生物产生不利影响^[9-12]。

生态环境中常出现混合污染的情况,其中农业活动常造成重金属和农药各组分之间的相互影响,并共同作用于生物体产生联合毒性。例如草甘膦常与波尔多液共同使用以控制植物的霉病,这可能导致草甘膦和铜的复合污染^[13]。耕种过程中过量使用磷肥会造成镉污染^[14],超量加入重金属到饲料中也会使动物粪便和秸秆混合的有机肥料存在重金属污染^[15]。

重金属与农药的复合污染在环境中普遍存在,铜、镉与杀螟丹、螺虫乙酯的复合污染不可避免,虽然已有学者对这4种污染物的单一毒性效应和机理做了研究,但是重金属与中低毒农药联合毒性研究还很少。本试验采用费氏弧菌为受试生物,研究重金属铜、镉与杀螟丹、螺虫乙酯构成的二元混合体系的联合毒性,通过混合毒性指数法(MTI法)评价其联合毒性效应,为重金属和农药复合污染的生态风险评估和环境保护提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

费氏弧菌(*Vibrio fischeri*)冻干粉,菌株符合国际标准,由浙江清华长三角研究院提供,-20℃避光保存。将胰蛋白胨、酵母膏、甘油、磷酸氢二胺、磷酸二氢钠、磷酸氢二钾、硫酸镁、氯化钠配制成培养液,分装到50 mL的锥形瓶中,灭菌30 min。将上述培养至对数期的发光细菌分装至离心管中,4℃、5000 r·min⁻¹离心10 min,弃去上清液,收集菌体。将菌体重新悬浮于含一定浓度氯化钠和脱脂牛奶、蔗糖等保护剂的溶液中,分装于安瓿瓶中,每瓶0.5 mL,于-70℃

预冻3 h,真空冷冻干燥24 h后封口。

Cu(NO₃)₂浓度为1000 mg·L⁻¹;Cd(NO₃)₂浓度为1000 mg·L⁻¹;ZnSO₄·7H₂O纯度为99.5%;杀螟丹农药标准物质纯度为98.1%;螺虫乙酯标样纯度为99.0%;NaCl和丙酮均为分析纯。如无特殊说明,以上试剂均采用去离子水稀释。

细胞培养板(WHB-24),美国康宁公司;微孔板型多功能检测仪(E7031),美国普洛麦格公司。

1.2 实验方法

用1 mL 2% NaCl溶液复苏费氏弧菌冻干粉,复苏至发光稳定且发光强度到100万光子数,再稀释至10 mL,振荡混匀。

1.2.1 单一毒性实验

将样品稀释为5个设定的质量浓度,每个浓度3次平行,设置阴性质控(空白对照,2%NaCl溶液)和阳性质控(10 mg·L⁻¹ ZnSO₄·7H₂O溶液)。在96孔板中加入复苏并稀释后的菌液20 μL,用微孔板型多功能检测仪测试发光菌的初始发光强度,测试合格后,每孔加入180 μL的受试样品,20℃恒温反应15 min和30 min后测其发光强度,计算抑制率为10%和90%时对应的样品浓度,设为正式实验的浓度范围区间。根据预实验得到的质量浓度范围,设计10个几何级数质量浓度梯度,每个浓度3组平行,并设置空白对照和阳性质控,参照预实验方法,测试反应15 min和30 min后的发光强度,并计算EC₅₀。

1.2.2 联合毒性实验

根据重金属铜、镉和农药杀螟丹、螺虫乙酯对费氏弧菌的单一毒性实验结果,以15 min EC₅₀值为1个毒性单位,按等毒性单位比1:1、1:2和2:1设计铜-杀螟丹、镉-杀螟丹、铜-螺虫乙酯、镉-螺虫乙酯的二元联合毒性试验。测定不同毒性单位比的混合物对费氏弧菌15、30、45、60、75、90 min的EC₅₀。

1.3 混合毒性指数法计算联合毒性

$$M = \sum_{i=1}^n TU_i = \sum_{i=1}^n \frac{C_i}{EC_{50i}}$$

$$M_0 = \frac{M}{TU_{i, \max}}$$

$$MTI = 1 - \frac{\lg M}{\lg M_0}$$

式中: TU_i 为混合物中 i 组分的毒性单位; C_i 为混合物中对生物产生半抑制影响的 i 组分浓度; EC_{50i} 为受试样本 i 的单一 EC_{50} 值; $TU_{i, \max}$ 为混合物中所有组分毒性单位的最大值; MTI 为混合毒性指数。

根据 MTI 值对联合毒性的类型进行判断: $MTI <$

0,拮抗作用; $MTI=0$,独立作用; $0<MTI<1$,部分相加作用; $MTI=1$,简单相加作用; $MTI>1$,协同作用^[6]。

1.4 数据处理

通过对比阴性质控样发光强度与受试样本发光强度,计算受试样本对费氏弧菌的抑制率,对相同暴露时间、不同浓度的抑制率进行曲线拟合,并计算各受试样本的 EC_{50} 值。

2 结果与分析

2.1 单一毒性

实验中阳性质控 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 对费氏弧菌的抑制率在40%~60%,阴性质控2% NaCl对费氏弧菌的校正系数 C_f 值均在0.6~1.8之间,符合费氏弧菌冻干粉水质检测的国际标准ISO 11348-3和GB/T 15441—2012。受试样品中丙酮的浓度为0.5%,对费氏弧菌的抑制率低于2%。

重金属铜、镉和农药杀螟丹、螺虫乙酯对费氏弧菌的单一毒性结果如图1和图2所示。重金属铜、镉对费氏弧菌的毒性很强,暴露15 min后的 EC_{50} 值分别为 $0.53\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.74\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,30 min后的 EC_{50} 值分别为 $0.51\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.67\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,属于剧毒毒性。农药杀螟丹

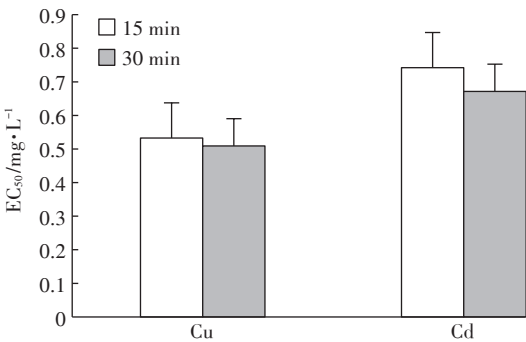


图1 重金属铜和镉对费氏弧菌作用15 min和30 min的 EC_{50}
Figure 1 The 15 min and 30 min EC_{50} of heavy metal copper and cadmium to *Vibrio fischeri*

和螺虫乙酯相比铜、镉对费氏弧菌的毒性较低,属于中低毒性。杀螟丹对费氏弧菌15 min和30 min的 EC_{50} 值分别为 $79.06\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $55.68\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,螺虫乙酯对费氏弧菌15 min和30 min的 EC_{50} 值分别为 $116.68\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $105.25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.2 联合毒性

重金属铜、镉和农药杀螟丹、螺虫乙酯的二元联合毒性结果列于表1和表2,采用MTI法评价暴露不同时间后混合物联合毒性的结果列于表3至表6。

铜-杀螟丹的混合体系中,当毒性单位比为1:1时,15 min和30 min的联合毒性评价结果为部分相加作用,表明其联合毒性介于独立和相加作用之间,而在45 min表现为简单相加作用,60 min后表现为协同作用,说明毒性随时间增加而增强。配比为1:2时,前45 min的评价结果相同,均为拮抗作用,表明两种物质联合毒性小于各物质单独毒性之和,说明毒性有所减弱。但是随着时间的增长,混合物对费氏弧菌的毒性增强,由拮抗变为部分相加作用。配比为2:1时,随着时间的增长,联合毒性由拮抗变为简单相加。

镉-杀螟丹的混合体系中,随着暴露时间的增

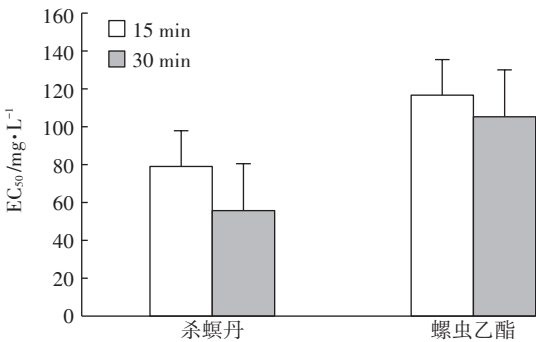


图2 农药杀螟丹和螺虫乙酯对费氏弧菌作用15 min和30 min的 EC_{50}
Figure 2 The 15 min and 30 min EC_{50} of pesticides cartap and spirotetramat to *Vibrio fischeri*

表1 铜-杀螟丹、镉-杀螟丹二元混合体系对费氏弧菌的 EC_{50} 值
Table 1 The EC_{50} of binary mixtures of copper-cartap and cadmium-cartap

时间 Time/min	铜:杀螟丹 Copper:Cartap						镉:杀螟丹 Copper:Cartap					
	1:2		1:1		2:1		1:2		1:1		2:1	
	铜 Copper	杀螟丹 Cartap	铜 Copper	杀螟丹 Cartap	铜 Copper	杀螟丹 Cartap	镉 Cadmium	杀螟丹 Cartap	镉 Cadmium	杀螟丹 Cartap	镉 Cadmium	杀螟丹 Cartap
15	0.44	131.00	0.40	59.81	0.65	48.61	0.71	151.13	0.81	86.17	0.81	43.05
30	0.35	104.55	0.35	51.52	0.57	42.16	0.57	122.21	0.71	75.45	0.73	38.71
45	0.29	85.39	0.26	38.43	0.43	32.10	0.36	75.88	0.47	50.33	0.55	29.17
60	0.27	81.69	0.25	36.67	0.40	30.11	0.34	73.02	0.46	48.62	0.53	28.38
75	0.26	78.68	0.24	35.36	0.38	28.17	0.33	70.61	0.44	46.63	0.49	26.15
90	0.25	75.57	0.23	34.02	0.34	25.44	0.32	67.36	0.42	45.18	0.49	26.22

表2 铜-螺虫乙酯、镉-螺虫乙酯二元混合体系对费氏弧菌的EC₅₀值
Table 2 The EC₅₀ of binary mixtures of copper-spirotetramat and cadmium-spirotetramat

时间 Time/min	铜:螺虫乙酯 Copper:Spirotetramat						镉:螺虫乙酯 Cadmium:Spirotetramat					
	1:2		1:1		2:1		1:2		1:1		2:1	
	铜 Copper	螺虫乙酯 Spirotetramat	铜 Copper	螺虫乙酯 Spirotetramat	铜 Copper	螺虫乙酯 Spirotetramat	镉 Cadmium	螺虫乙酯 Spirotetramat	镉 Cadmium	螺虫乙酯 Spirotetramat	镉 Cadmium	螺虫乙酯 Spirotetramat
15	0.52	230.90	0.53	117.26	0.67	65.73	0.65	204.47	0.76	119.47	1.04	81.84
30	0.47	204.91	0.48	105.50	0.62	68.35	0.54	169.31	0.70	110.19	0.91	72.37
45	0.38	167.71	0.44	95.79	0.55	60.03	0.46	146.61	0.64	100.95	0.75	59.09
60	0.37	162.67	0.43	93.83	0.53	57.88	0.45	142.81	0.63	99.46	0.73	57.30
75	0.35	152.52	0.41	90.34	0.52	56.88	0.44	139.30	0.62	97.60	0.71	55.83
90	0.34	148.11	0.40	87.51	0.51	55.83	0.43	135.36	0.60	95.29	0.69	54.52

表3 铜-杀螟丹二元混合体系联合毒性评价
Table 3 Evaluation of joint toxicity of binary mixtures of copper-cartap

时间 Time/min	铜:杀螟丹 Cadmium:Cartap					
	1:2		1:1		2:1	
	MTI	效应 Effect	MTI	效应 Effect	MTI	效应 Effect
15	-1.25	拮抗	0.40	部分相加	-0.50	拮抗
30	-0.69	拮抗	0.62	部分相加	-0.15	拮抗
45	-0.19	拮抗	1.04	简单相加	0.52	部分相加
60	-0.08	独立	1.11	协同	0.68	部分相加
75	0.01	独立	1.17	协同	0.85	部分相加
90	0.11	部分相加	1.22	协同	1.09	简单相加

表4 镉-杀螟丹二元混合体系联合毒性评价
Table 4 Evaluation of joint toxicity of binary mixtures of cadmium-cartap

时间 Time/min	铜:杀螟丹 Copper:Cartap					
	1:2		1:1		2:1	
	MTI	效应 Effect	MTI	效应 Effect	MTI	效应 Effect
15	-1.60	拮抗	-0.12	拮抗	-0.20	拮抗
30	-1.08	拮抗	0.07	独立	0.06	独立
45	0.10	部分相加	0.65	部分相加	0.75	部分相加
60	0.20	部分相加	0.70	部分相加	0.82	部分相加
75	0.28	部分相加	0.76	部分相加	1.02	简单相加
90	0.40	部分相加	0.81	部分相加	1.02	简单相加

长,联合毒性由拮抗作用变为相加作用,且45 min时毒性明显增强,表现为部分相加,随后的暴露时间里,毒性小幅增长。

铜-螺虫乙酯的混合体系中,毒性单位比为1:2时,混合物对费氏弧菌表现为拮抗作用,随着时间的增长,拮抗作用减弱。毒性单位比为1:1和2:1时,混

表5 铜-螺虫乙酯二元混合体系联合毒性评价
Table 5 Evaluation of joint toxicity of binary mixtures of copper-spirotetramat

时间 Time/min	铜:螺虫乙酯 Copper:Spirotetramat					
	1:2		1:1		2:1	
	MTI	效应 Effect	MTI	效应 Effect	MTI	效应 Effect
15	-1.69	拮抗	-0.01	独立	-0.64	拮抗
30	-1.39	拮抗	0.15	部分相加	-0.38	拮抗
45	-0.90	拮抗	0.29	部分相加	-0.06	独立
60	-0.82	拮抗	0.32	部分相加	0.03	独立
75	-0.66	拮抗	0.37	部分相加	0.07	独立
90	-0.59	拮抗	0.42	部分相加	0.12	部分相加

表6 镉-螺虫乙酯二元混合体系联合毒性评价
Table 6 Evaluation of joint toxicity of binary mixtures of cadmium-spirotetramat

时间 Time/min	铜:螺虫乙酯 Cadmium:Spirotetramat					
	1:2		1:1		2:1	
	MTI	效应 Effect	MTI	效应 Effect	MTI	效应 Effect
15	-1.39	拮抗	-0.03	独立	-0.83	拮抗
30	-0.92	拮抗	0.08	独立	-0.50	拮抗
45	-0.56	拮抗	0.21	部分相加	-0.03	独立
60	-0.50	拮抗	0.23	部分相加	0.05	独立
75	-0.44	拮抗	0.26	部分相加	0.12	部分相加
90	-0.37	拮抗	0.29	部分相加	0.17	部分相加

合物对费氏弧菌的联合毒性为部分相加作用。

镉-螺虫乙酯的混合体系中,毒性单位比为1:1时,15 min和30 min表现为独立作用,随后毒性增强,表现为部分相加作用。毒性单位比为1:2时,表现为拮抗作用。毒性单位比为2:1时,随着时间的增长,联合毒性从拮抗作用变为部分相加作用。

3 讨论

从图1可得出受试样本对费氏弧菌的毒性顺序为铜>镉,毒性顺序与其他生物如蚯蚓、人体等不同,可能是因为铜对水生细菌的毒性较大^[17]。本研究中铜、镉对费氏弧菌的毒性大小顺序与Tong等^[18]和Mansour等^[19]研究结果相同,但 EC_{50} 值与其研究的数值有差异,可能是因为费氏弧菌的发光强度与其他因素(如温度、盐度、细菌质量浓度)有关。

图2中,杀螟丹的毒性大于螺虫乙酯,这与两种物质在其他生物体的毒性顺序相同。杀螟丹对南亚野鲮的96 h LC_{50} 为 $0.36 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[20],周胜利^[8]用98%杀螟丹原药对斑马鱼胚胎进行暴露,发现96 h LC_{50} 为 $0.28 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,而螺虫乙酯对非洲鲶鱼胚胎的急性毒性 LC_{50} 为 $8.44 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[6],从两种物质对于鱼类胚胎的急性毒性 LC_{50} 可以发现杀螟丹毒性大于螺虫乙酯。暴露15 min后,4种物质对费氏弧菌的单一毒性大小顺序为铜>镉>杀螟丹>螺虫乙酯,暴露30 min,毒性大小顺序未发生改变且差异不显著,因此不再延长暴露时间。

杀螟丹、螺虫乙酯在与重金属铜、镉联合时,会抑制铜、镉的毒性,出现拮抗和部分相加作用。在表3和表4重金属与杀螟丹的毒性单位比为1:2和2:1的混合体系中,当杀螟丹占比较大时,联合毒性减弱,这可能是因为杀螟丹对细胞膜有损伤作用^[21],抑制了费氏弧菌对铜、镉的吸收从而降低了毒性。在表5和表6重金属和螺虫乙酯的毒性单位比为1:2和2:1的混合体系中,螺虫乙酯在混合体系中占比越大,则拮抗作用越强,这可能是因为螺虫乙酯抑制了费氏弧菌的生长,降低了其机体能量平衡和代谢相关基因的表达,降低了细胞膜的通透性^[22],从而降低了铜、镉渗入细胞膜内所产生的毒害作用。

在4种混合体系中,随铜、镉在混合体系中占比增加,联合毒性增强,且在暴露45 min后联合毒性有较为明显的增强,说明杀螟丹和螺虫乙酯可能只是减缓了铜、镉进入费氏弧菌的速率。在费氏弧菌为受试生物探究重金属与农药联合毒性的实验中,常以15 min和30 min时的 EC_{50} 作为联合毒性的评价标准^[23]。在杀螟丹、螺虫乙酯和重金属的联合毒性实验中发现,由于农药减缓了重金属进入费氏弧菌的时间,因此应延长对费氏弧菌的暴露时间至45 min以上。

从4种混合体系的联合毒性评价中可以明显看到,随着时间的增长毒性增强。污染物的毒性随时间动态变化,不同的污染物随时间可能有不同的毒性变

化规律^[24]。如Zhu等^[25]采用浓度-时间-效应曲面研究了6种三嗪类除草剂对Q67的毒性,发现其毒性具有明显的时间依赖性,即毒性随着时间的延长而逐渐增加,但不同毒物的毒性增幅不同。此外,混合体系类型、混合配比对联合作用效应也会产生影响。如螺虫乙酯占比较高时,会抑制重金属进入细胞,部分表现为拮抗作用;当螺虫乙酯占比较低时,则表现为部分相加作用。因此在实际的生态风险评价中,要结合实际残留量来加以分析。

综上所述,杀螟丹与重金属的混合体系中,最终表现为相加作用或协同作用。虽然在混合体系中较高浓度的螺虫乙酯会抑制重金属离子的毒性,但实际水环境的农药残留和重金属混合体系中,螺虫乙酯残留常占比较低,因此实际情况仍体现了毒性增强。杀螟丹和螺虫乙酯在国内外广泛使用,如杀螟丹占到湄公河三角洲稻米和稻田养殖场杀虫剂使用量的19%^[26],且我国土壤环境和水环境中铜、镉含量普遍较高。农药残留和重金属都能通过降雨侵蚀和地表径流进入水生环境并共同作用于水生生物产生联合毒性。因此,虽然单一物质毒性相对较低,但是随着暴露时间的增长,杀螟丹、螺虫乙酯与铜、镉的联合毒性仍不容忽视,其中杀螟丹与重金属的联合毒性风险更大。

4 结论

在充分暴露的条件下,杀螟丹、螺虫乙酯与铜、镉联合毒性增强,整体表现为相加作用或协同作用,但当螺虫乙酯在混合体系中所占毒性单位比较大时,表现为拮抗作用。

由于农药能减缓金属离子进入费氏弧菌的速率,因此农药杀螟丹和螺虫乙酯与重金属铜、镉的联合暴露,体现为暴露初期重金属毒性受到抑制,而后联合毒性缓慢增强。采用发光细菌法评价联合毒性时,应将暴露时间从30 min延长至45 min以上。杀螟丹和螺虫乙酯虽是中低毒农药,但与重金属铜、镉混合时,对水生生物产生的联合毒性增强,并需进一步实验判定长期暴露的毒性。

参考文献:

- [1] 环境保护部,国土资源部. 2014年全国土壤污染状况调查公报[J]. 中国环保产业, 2014, 36(5): 1689-1692.
Ministry of Environmental Protection, Ministry of Land and Resources. 2014 national soil pollution status survey bulletin[J]. *China Environmental Protection Industry*, 2014, 36(5): 1689-1692.
- [2] 张凯,周艳涛,王哲玮,等. 铜、镉胁迫对舞毒蛾排毒代谢酶的影

- 响[J]. 北京林业大学学报, 2016, 38(2):61-67.
- ZHANG Kai, ZHOU Yan-tao, WANG Xi-wei, et al. Effects of copper and cadmium stress on the activities of detoxifying metabolic enzymes in *Lymantria dispar*[J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2016, 38(2):61-67.
- [3] Iannone M F, Groppa M D, Benavides M P. Cadmium induces different biochemical responses in wild type and catalase-deficient tobacco plants [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2015, 109:201-211.
- [4] Li S F, Zhang G J, Gao W J, et al. Plant growth, development and change in GSH level in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) exposed to copper and lead[J]. *Archives of Biological Sciences*, 2015, 67(2):385-396.
- [5] 赵 玲, 滕 应, 骆永明. 中国农田土壤农药污染现状和防控对策[J]. 土壤, 2017, 49(3):417-427.
- ZHAO Ling, TENG Ying, LUO Yong-ming. Present pollution status and control strategy of pesticides in agricultural soils in China: A review[J]. *Soils*, 2017, 49(3):417-427.
- [6] Ouyang Y, Montez G H, Liu L, et al. Spirodiclofen and spirotetramat bioassays for monitoring resistance in citrus red mite, *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae) [J]. *Pest Management Science*, 2012, 68(5):781-787.
- [7] Zhou S L, Dong Q, Li S, et al. Developmental toxicity of cartap on zebrafish embryos[J]. *Aquatic Toxicology*, 2009, 95(4):339-346.
- [8] 周胜利. 沙蚕毒素类杀虫剂对斑马鱼的发育和生殖毒性[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- ZHOU Sheng-li. Developmental and reproductive toxicity of nereistoxins on zebrafish[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2010.
- [9] Agbohessi P T, Imorou T I, Houndji A, et al. Acute toxicity of agricultural pesticides to embryo-larval and juvenile African catfish *Clarias gariepinus*[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2013, 64(4):692-700.
- [10] Yin X, Zhu G, Li X B, et al. Genotoxicity evaluation of chlorpyrifos to amphibian Chinese toad (Amphibian: Anura) by Comet assay and Micronucleus test[J]. *Mutation Research/genetic Toxicology & Environmental Mutagenesis*, 2009, 680(1/2):2-6.
- [11] 陈 颖, 陶芳怡, 刘训悦, 等. 螺虫乙酯对大型溞的急性和慢性毒性效应[J]. 农药学报, 2018, 20(1):118-123.
- CHEN Ying, TAO Fang-yi, LIU Xun-yue, et al. Acute and chronic toxicities of spirotetramat to *Daphnia magna*[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2018, 20(1):118-123.
- [12] Chen X D, Stark J D. Individual- and population-level toxicity of the insecticide, spirotetramat and the agricultural adjuvant, destiny to the cladoceran, *Ceriodaphnia dubia*[J]. *Ecotoxicology*, 2010, 19(6):1124-1129.
- [13] Zhou C F, Wang Y J, Yu Y C, et al. Cu and glyphosate toxicity to earthworm (*Eisenia fetida*) [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2012, 20(8):1077-1082.
- [14] 蒋新宇. 镉、毒死蜱复合污染对土壤酶活性和青菜生长的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2009.
- JIANG Xin-yu. Effects of cadmium and chlorpyrifos combined pollution on soil enzymatic activities and physiological and biochemical characteristics of pakchoi (*Brassica chinensis* L.) [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2009.
- [15] 潘 寻, 韩 哲, 贲伟伟. 山东省规模化猪场猪粪及配合饲料中重金属含量研究[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(1):160-165.
- PAN Xun, HAN Zhe, BEN Wei-wei. Heavy metal contents in pig manure and pig feeds from intensive pig farms in Shandong Province, China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(1):160-165.
- [16] K nemann H. Quantitative structure-activity relationships in fish toxicity studies Part 1: Relationship for 50 industrial pollutants[J]. *Toxicology*, 1981, 19(3):209-221.
- [17] 潘 科, 朱艾嘉, 徐志斌, 等. 中国近海和河口环境铜污染的状况[J]. 生态毒理学, 2014, 9(4):618-631.
- PAN Ke, ZHU Ai-jia, X  Zhi-bin, et al. Copper contamination in coastal and estuarine waters of China[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2014, 9(4):618-631.
- [18] Tong F, Zhao Y, Gu X, et al. Joint toxicity of tetracycline with copper (II) and cadmium (II) to *Vibrio fischeri*: Effect of complexation reaction[J]. *Ecotoxicology*, 2015, 24(2):346-355.
- [19] Mansour S A, Abdel H A A, Ibrahim A W, et al. Toxicity of some pesticides, heavy metals and their mixtures to *Vibrio fischeri* bacteria and *Daphnia magna*: Comparative study[J]. *Journal of Biology and Life Science*, 2015, 6(2):221-240.
- [20] Vivek C H, Veeraiah K, Padmavathi P, et al. Acute toxicity and residue analysis of cartap hydrochloride pesticide: Toxicological implications on the fingerlings of fresh water fish *Labeo rohita*[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2016, 7:193-201.
- [21] 刘海婷. 沙蚕毒素类杀虫剂巴丹对绿猴肾细胞毒性及其作用机制的研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2007.
- LIU Hai-ting. Cartap-induced cytotoxicity in vero cell line and the investigation of mechanism on the toxic effect[D]. Qingdao: Qingdao University, 2007.
- [22] 吴慧明. 螺虫乙酯对雄性大鼠毒性及其机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- WU Hui-ming. Toxicity and toxic mechanism of spirotetramat in male rats[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.
- [23] 仇爱锋, 王玉涛, 张树秋, 等. 克百威、镉和铜对费氏弧菌的联合毒性效应[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(5):869-875.
- QIU Ai-feng, WANG Yu-tao, ZHANG Shu-qiu, et al. Joint toxic effects of carbofuran, Cd and Cu to *Vibrio fischeri*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(5):869-875.
- [24] Hatano A, Shoji R. A new model for predicting time course toxicity of heavy metals based on Biotic Ligand Model (BLM) [J]. *Comparative Biochemistry & Physiology Toxicology & Pharmacology Cbp*, 2010, 151(1):25-32.
- [25] Zhu X W, Liu S S, Ge H L, et al. Comparison between the short-term and the long-term toxicity of six triazine herbicides on photobacteria Q67[J]. *Water Research*, 2009, 43(6):1731-1739.
- [26] Berg H. Pesticide use in rice and rice-fish farms in the Mekong Delta, Vietnam[J]. *Crop Protection*, 2001, 20(10):897-905.