

乐果、铜和锌对水生生物的联合毒性研究

丁英杰, 诸寅, 沈玲金, 蔡佳玲

引用本文:

丁英杰, 诸寅, 沈玲金, 等. 乐果、铜和锌对水生生物的联合毒性研究[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(12): 2634–2637.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0612>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

铜对背角无齿蚌幼蚌的组织损伤效应研究

刘凯, 陈修报, 刘洪波, 姜涛, 杨健

农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1183–1189 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1380>

氧化锌和二氧化钛纳米颗粒对淡水绿藻的单一及联合毒性研究

王壮, 金世光, 张帆, 王德高

农业环境科学学报. 2021, 40(10): 2095–2105 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0319>

镉砷在线蚓中的毒物-毒效动力学过程及定量模拟

李敏, 龚冰, 黄雪莹, 肖雪, 何尔凯, 仇荣亮

农业环境科学学报. 2020, 39(7): 1451–1459 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0209>

克百威、镉和铜对费氏弧菌的联合毒性效应

仇爱锋, 王玉涛, 张树秋, 彭强辉, 陈子雷

农业环境科学学报. 2017, 36(5): 869–875 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1502>

敌草快对斑马鱼组织损伤及慢性肝脏损害作用

沈文静, 张潇, 赵子昂, 方再光, 谢曦, 王蓉, 胡文婷

农业环境科学学报. 2021, 40(5): 949–956 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0043>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

丁英杰, 诸寅, 沈玲金, 等. 乐果、铜和锌对水生生物的联合毒性研究[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(12): 2634–2637.

DING Y J, ZHU Y, SHEN L J, et al. Combined toxicity of dimethoate, copper and zinc to aquatic organisms[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(12): 2634–2637.



开放科学 OSID

乐果、铜和锌对水生生物的联合毒性研究

丁英杰, 诸寅, 沈玲金, 蔡佳玲*

(浙江清华长三角研究院, 浙江 嘉兴 314006)

摘要:为通过不同生物等级的模式生物研究乐果、铜和锌的联合毒性,以明亮发光杆菌和斑马鱼胚胎为受试模式生物,通过混合毒性指数法(MTI法)评价了乐果、铜和锌的联合毒性效应。结果表明:明亮发光杆菌毒性测试显示,暴露测试15 min时,乐果、铜和锌的 EC_{50} 值分别为123、0.53 $mg \cdot L^{-1}$ 和1.71 $mg \cdot L^{-1}$;暴露测试30 min时, EC_{50} 值分别为122、0.50 $mg \cdot L^{-1}$ 和1.54 $mg \cdot L^{-1}$ 。乐果-铜和乐果-锌暴露15 min测得的MTI分别为0.69和0.60。斑马鱼胚胎毒性测试显示,暴露72 h后乐果、铜和锌的 LC_{50} 值分别为0.31、1.67 $mg \cdot L^{-1}$ 和369 $mg \cdot L^{-1}$ 。乐果-铜和乐果-锌暴露72 h后测得的MTI分别为0.70和0.75。研究表明,乐果和铜、锌分别混合后的联合毒性均有所增强,整体毒性表现为部分相加作用,因此两类物质在环境中的残留会对水生生物及其他生物造成潜在危害。

关键词:乐果;铜;锌;明亮发光杆菌;斑马鱼胚胎;联合毒性

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2021)12-2634-04 doi:10.11654/jaes.2021-0612

Combined toxicity of dimethoate, copper and zinc to aquatic organisms

DING Yingjie, ZHU Yin, SHEN Lingjin, CAI Jialing*

(Zhejiang Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University, Jiaxing 314006, China)

Abstract: To study the combined toxicity of dimethoate, copper and zinc, photobacterium phosphoreum and zebrafish eggs were used as model organisms. The combined toxicity of dimethoate-copper and dimethoate-zinc was evaluated by mixture toxicity indices (MTI). Toxicity test of photobacterium phosphoreum: the EC_{50} of dimethoate, copper and zinc after 15 min exposure were 123, 0.53 $mg \cdot L^{-1}$ and 1.71 $mg \cdot L^{-1}$ respectively. The EC_{50} after 30 min were 122, 0.50 $mg \cdot L^{-1}$ and 1.54 $mg \cdot L^{-1}$. The MTI of dimethoate-copper and dimethoate-zinc after 15 min were 0.69 and 0.60. Toxicity test of zebrafish eggs: the LC_{50} of dimethoate, copper and zinc exposed after 72 h of exposure were 0.31, 1.67 $mg \cdot L^{-1}$ and 369 $mg \cdot L^{-1}$. The MTI of dimethoate-copper and dimethoate-zinc after 72 h were 0.70 and 0.75. The combined toxicity of dimethoate-copper and dimethoate-zinc was enhanced, and the overall toxicity showed a partially additive effect. Therefore, the residues of these two substances in the environment has the potential to cause harm to aquatic and other organisms.

Keywords: dimethoate; copper; zinc; photobacterium phosphoreum; zebrafish egg; combined toxicity

收稿日期:2021-05-26 录用日期:2021-07-19

作者简介:丁英杰(1988—),男,浙江湖州人,本科,工程师,从事食品与环境的分析检测工作。E-mail:673554523@qq.com

*通信作者:蔡佳玲 E-mail:641544707@qq.com

基金项目:国家重点研发计划项目(2017YFC1700800)

Project supported: The National Key Research and Development Program of China (2017YFC1700800)

在工农业生产日益发展的同时,农药大量使用和重金属排放对生态环境造成了严重的影响。2014年发布的全国污染状况调查公报显示,铜、锌污染点位超标率分别为2.1%和0.9%。虽然铜和锌是生物体不可缺少的微量元素,但土壤中过量的铜和锌会对植物生长造成影响,并产生毒害作用^[1]。且铜和锌等重金属一旦进入生态环境则难以被生物降解^[2]。我国是农业大国,农药使用量居世界第一,每年进入环境的农药高达使用量的80%~90%^[3]。我国有机磷农药产量占全球产量的1/3,有机磷农药占国内农药的1/2以上。据丁浩东等^[4]对环境中有有机磷污染情况进行统计,全国水体中农药平均浓度最高的是乐果($187.37 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$),其在杭嘉湖被检出的最大浓度达到 $30\ 180 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

方贵桢等^[5]的研究表明,发光菌在重金属离子毒性测试方面具有较高的灵敏度。贾玉玲等^[6]的研究表明,发光菌检测已经充分应用于有机磷农药检测。宋明霞等^[7]和岳东等^[8]的研究表明,重金属和有机磷农药都具有一定的胚胎发育毒性。此外,在环境废水生物毒性检测中发现,重金属和农药混合后普遍存在联合毒性效应^[9]。在生态环境中会遇到有机磷农药与重金属的混合污染情况,其中乐果与重金属的混合污染也会存在,现已有学者对两者的单一毒性效应和机理进行了研究,但对这两类物质联合毒性的研究还很少。

本试验采用明亮发光杆菌和斑马鱼胚胎作为受试模式生物,研究铜、锌与乐果的单一毒性以及构成的二元混合体的联合毒性。通过混合毒性指数法(MTI法)评价其联合毒性效应,为有机磷农药与重金属复合污染的生态风险评估提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

倒置显微镜,日本Nikon MFA33402;细胞培养板,美国Corning Costar;微孔板型多功能检测仪,美国Promega公司GloMax-Multi2011ZSIR0369US。

主要试剂七水硫酸铜、醋酸锌、氯化钠和氯化汞均为分析纯;乐果为市售常规乳油剂型农药,有效成分含量40%(以下均用乐果简称)。

1.2 试验方法

1.2.1 发光菌生物毒性试验

从-20℃储藏室取出明亮发光细菌冻干粉,用移液枪吸取1 mL 2.5%氯化钠注入冻干粉西林瓶,冰水浴复苏备用。取复苏后的发光菌液0.1 mL,用2.5%

氯化钠溶液稀释到10 mL,使用微孔多功能检测仪测定初始发光强度。

(1)单一毒性试验

按对数将样品液稀释成5个浓度,分别为100%、10%、1%、0.1%和0.01%,每个浓度设置3个平行,同时将96孔板第一行设置为阴性质控,第二行为阳性质控。各孔中加入样品液1 μL ,3%氯化钠溶液179 μL 和菌液20 μL ,总体积为200 μL ,放入仪器进行测试。在预试验得到的抑制率范围0~100%之间设计5浓度,进行毒性测试。暴露时间分别为15 min和30 min,并计算 EC_{50} 。

(2)联合毒性试验

根据铜、锌和乐果对明亮发光杆菌的单一毒性试验结果,配制相应浓度的乐果-铜和乐果-锌溶液。混合物中各组分的浓度为各自暴露15 min时 EC_{50} 的浓度,将混合物进行毒性测试,并计算15 min和30 min时的 EC_{50} 。

1.2.2 斑马鱼胚胎发育毒性试验

取用实验室纯化培养的斑马鱼成鱼孵化胚胎,并用倒置显微镜筛选出正常分裂的斑马鱼胚胎备用。

(1)单一毒性试验

设定预试验的浓度为100%、50%、25%、12.5%、6.25%,每个浓度设置3个平行。选用透明24孔细胞培养板进行测试,每块板均设置4个空白对照组,将培养板置于 $(26 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 的培养箱中进行测试。每隔24 h用显微镜观察斑马鱼胚胎死亡情况并记录,最终结果以72 h半致死率 LC_{50} 表示,并根据此结果得到正式试验的染毒浓度。在预试验得到的抑制率范围0~100%之间设计5浓度,再进行毒性测试。

(2)联合毒性试验

根据铜、锌和乐果对斑马鱼胚胎的单一毒性试验结果,配制相应浓度的乐果-铜和乐果-锌溶液。混合物中各组分浓度为各自72 h半致死率 LC_{50} 的浓度,将混合物进行毒性测试,测得72 h致死率 LC_{50} 浓度。

1.3 数据处理

1.3.1 试验数据处理

应用Origin软件对各稀释浓度的抑制率、致死率进行数据拟合,根据拟合后的曲线计算获得明亮发光杆菌暴露15 min和30 min的 EC_{50} 以及斑马鱼胚胎的半致死率 LC_{50} 。

1.3.2 混合毒性指数法计算联合毒性

$$M = \sum_{i=1}^n U_i$$

$$M_0 = \frac{M}{U_{i, \max}}$$
$$I_{MT} = 1 - \frac{\lg M}{\lg M_0}$$

式中： U_i 为混合物中各组分的毒性单位； $U_{i, \max}$ 为混合物中所有组分毒性单位的最大值。 I_{MT} 为混合毒性指数^[10]。

根据 I_{MT} 值对联合毒性的类型进行判断：当 $I_{MT}=1$ 时，为简单相加作用；当 $I_{MT}<0$ 时，为拮抗作用；当 $I_{MT}>1$ 时，为协同作用；当 $I_{MT}=0$ 时，为独立作用；当 $0<I_{MT}<1$ 时，为部分相加作用。

2 结果与讨论

2.1 明亮发光杆菌

2.1.1 单一毒性

乐果和重金属铜、锌对明亮发光杆菌的单一毒性结果见表1，从表中可知，乐果、铜和锌对明亮发光杆菌的急性毒性不同。在一定浓度范围内明亮发光杆菌的抑制率与样本浓度呈正比，且对明亮发光杆菌的急性毒性顺序为铜>锌>乐果，铜和锌的毒性顺序与其他学者的研究结果^[11]一致。单一毒性试验结果显示，明亮发光杆菌对铜和锌更敏感，可能原因是重金属会引起水生细菌细胞内产生破坏细胞结构和功能的活性氧，从而直接导致细菌死亡。此外试验中发现菌液的初始浓度对于试验结果也有较大影响，所以试验中需要将发光菌菌液的浓度控制在一定的范围。

从表1可知，暴露30 min的毒性相较于15 min增加不明显，故不再延长暴露时间。

2.1.2 联合毒性

乐果和重金属铜、锌对明亮发光杆菌的联合毒性测试结果列于表2。通过 I_{MT} 进行评价，从表3可知两类物质同时存在对明亮发光菌的毒性增强，其部分相加毒性作用机制可能是由于两类物质形成了亲脂性络合物，从而促进了细胞对金属离子的吸收和累积。

2.2 斑马鱼胚胎法

2.2.1 单一毒性

乐果、重金属铜和锌对斑马鱼胚胎暴露72 h后的 LC_{50} 分别是 $0.31、1.67\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $369\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。从测试结果可知，在一定浓度范围内斑马鱼胚胎的致死率与样本浓度呈正比，且对斑马鱼胚胎的急性毒性顺序为乐果>铜>锌。从结果中可以看出铜的毒性远大于锌，这可能是因为铜会引起细胞氧化应激反应，从而导致线粒体数量减少进而造成细胞凋亡。而乐果具有抗胆碱酯酶的作用，可降低斑马鱼鳃和肝脏的活性，因此可能导致比重金属对斑马鱼胚胎更大的影响。

2.2.2 联合毒性

乐果和重金属铜、锌对斑马鱼胚胎的联合毒性测试结果列于表4。从联合毒性测试结果可知，乐果-重金属二元混合物的浓度与其对斑马鱼胚胎的致死率相关。通过 I_{MT} 进行评价，从表5可知两类物质同时存在时对斑马鱼胚胎的联合毒性有明显的增强。乐

表1 乐果、铜和锌对明亮发光杆菌的EC₅₀(mg·L⁻¹)

Table 1 The EC₅₀ of dimethoate, copper and zinc to photobacterium phoshoreum(mg·L⁻¹)

时间Time/min	铜Copper(95%CI)	锌Zinc(95%CI)	乐果Dimethoate(95%CI)
15	0.53(0.52~0.53)	1.71(1.56~1.86)	123(119~128)
30	0.50(0.49~0.51)	1.54(1.43~1.66)	122(115~130)

表2 混合物中对生物产生半抑制影响的各组分浓度(mg·L⁻¹)

Table 2 Concentrations of components in a mixture with half inhibitory effects on organisms(mg·L⁻¹)

	乐果-铜 Dimethoate-Copper		乐果-锌 Dimethoate-Zinc	
	铜Copper(95%CI):	乐果Dimethoate(95%CI)	锌Zinc(95%CI)	乐果Dimethoate(95%CI)
15 min EC ₅₀	0.33(0.25~0.40)	76.4(59.2~93.6)	1.13(1.00~1.26)	81.3(72.1~90.6)

表3 乐果与铜、锌混合物联合毒性评价

Table 3 The joint toxicity evaluation of dimethoate - copper and dimethoate - zinc

时间 Time/min	乐果-铜 Dimethoate-Copper		乐果-锌 Dimethoate-Zinc	
	I_{MT}	效应Effect	I_{MT}	效应Effect
15	0.69	部分相加	0.60	部分相加

表4 混合物中对斑马鱼胚胎产生半致死影响的各组分浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)Table 4 The concentration of each component in the mixture with half lethal effect on zebrafish (*Danio rerio*) eggs($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

	乐果-铜 Dimethoate-Copper		乐果-锌 Dimethoate-Zinc	
	铜 Copper(95%CI):	乐果 Dimethoate(95%CI)	锌 Zinc(95%CI):	乐果 Dimethoate(95%CI)
LC ₅₀	1.03(0.92~1.14)	0.19(0.17~0.21)	220(175~264)	0.18(0.15~0.22)

表5 乐果与铜、锌混合物联合毒性评价

Table 5 The joint toxicity evaluation of copper - dimethoate and zinc - dimethoate

乐果-铜 Dimethoate-Copper		乐果-锌 Dimethoate-Zinc	
I_{MT}	效应 Effect	I_{MT}	效应 Effect
0.70	部分相加	0.75	部分相加

果在杭嘉湖地区污染严重,且土壤环境中铜和锌含量普遍较高,因此两者的混合污染不可避免地对生物造成危害。同时长时间暴露导致的两类物质的联合毒性不容忽视,其中乐果与铜的联合毒性风险更大。

3 结论

(1)在单一物质情况下,重金属铜和锌比有机磷农药乐果对水生细菌的急性毒性更强,而有机磷农药乐果对斑马鱼胚胎的影响比重金属更大。

(2)在混合物充分暴露的条件下,乐果-铜和乐果-锌的混合物对明亮发光杆菌和斑马鱼胚胎的联合毒性均得到增强,表明两类物质同时存在时会促进双方的急性毒性。

(3)联合毒性测试结果表明,乐果-铜和乐果-锌的斑马鱼胚胎混合毒性指数高于明亮发光杆菌,表明乐果与重金属的联合毒性对斑马鱼胚胎的影响更大。两类物质在环境中的残留会对水生生物及其他生物造成潜在危害。

参考文献:

- [1] 李继业,韩龙江,杜明,等.铜对海洋生物毒理学研究进展及展望[J].海洋湖沼通报,2021,178(1):149-156. LI J Y, HAN L J, DU M, et al. Progress and prospect of copper for marine biotoxicology[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2021, 178(1):149-156.
- [2] 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.
- [3] 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 L, TENG Y, LUO Y M. Present

pollution status and control strategy of pesticides in agricultural soils in China: A review[J]. *Soils*, 2017, 49(3):417-427.

- [4] 丁浩东,万红友,秦攀,等.环境中有机磷农药污染状况、来源及风险评价[J].环境化学,2019,38(3):463-479. DING H D, WAN H Y, QIN P, et al. Occurrence, sources and risk assessment of organophosphorus pesticides in the environment, China[J]. *Environmental Chemistry*, 2019, 38(3):463-479.
- [5] 方贵楨,胡立新,黄国勇,等.基因重组发光菌应用于环境样品毒性的测试[J].华南师范大学学报(自然科学版),2020,52(2):60-67. FANG G Z, HU L X, HUANG G Y, et al. The application of gene recombinant luminescent bacteria to environmental sample toxicity test[J]. *Journal of South China Normal University (Natural Science Edition)*, 2020, 52(2):60-67.
- [6] 贾玉玲,蔡强,彭惠民,等.乙酰胆碱酯酶和发光菌检测有机磷农药毒性研究[J].环境科学,2011,32(6):1820-1824. JIA Y L, CAI Q, PENG H M, et al. Detection of the toxicity of organophosphorus pesticide with acetylcholinesterase and luminescent bacterium[J]. *Environmental Science*, 2011, 32(6):1820-1824.
- [7] 宋明霞,陈天荣,钱豪文,等.3种重金属对斑马鱼的联合毒性及迷迭香酸的保护作用研究[J].烟台大学学报(自然科学与工程版),2020,33(1):43-48. SONG M X, CHEN T R, QIAN H W, et al. Joint toxicity of three heavy metals to zebrafish embryos and protective effect of rosmarinic acid[J]. *Journal of Yantai University (Natural Science and Engineering Edition)*, 2020, 33(1):43-48.
- [8] 岳东,张晓雪,赵飞,等.久效磷对斑马鱼胚胎期心脏和骨骼发育的毒性效应研究[J].中国海洋大学学报(自然科学版),2016,46(8):72-78. YUE D, ZHANG X X, ZHAO F, et al. Study of the toxicity of monocrotophos on the cardiac and skeletal development of *Danio rerio* embryos[J]. *Periodical of Ocean University of China (Natural Science Edition)*, 2016, 46(8):72-78.
- [9] 仇爱锋,王玉涛,张树秋,等.克百威、铜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 A F, WANG Y T, ZHANG S Q, et al. Joint toxic effects of carbofuran, Cd and Cu to *Vibrio fischeri*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(5):869-875.
- [10] KONEMANN H. Quantitative structure-activity relationships in fish toxicity studies Part 1: Relationship for 50 industrial pollutants[J]. *Toxicology*, 1981, 19(3):209-221.
- [11] 杨虹.常见重金属对费氏弧菌的生物毒性研究[J].环境科学与管理,2015,40(10):140-142. YANG H. Toxicities of heavy metals to *Vibrio fischeri*[J]. *Environmental Science and Management*, 2015, 40(10):140-142.