

对硫磷与敌百虫对发光菌的联合毒性效应

邹丽敏 王超 林志评 (河海大学环境科学与工程学院, 江苏南京210098)

摘要 研究了对硫磷和敌百虫对发光菌的单一毒性及以毒性单位1:1、1:4、4:1配比的二元混合物的联合毒性,并且对联合毒性进行评价。结果表明,采用毒性单位法(TU)、相加指数法(AI)、相似性参数()得出二元混合物的联合作用均为拮抗作用,混合毒性指数法(MII)与前3种方法的评价结果略有不同。

关键词 对硫磷;敌百虫;发光菌;联合毒性;评价

中图分类号 S481+.9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)16-04736-02

Joint Toxicity of Parathion and Dpterox to *Vibrio fischeri*

ZOU Li-min et al (College of Environmental Science & Engineering, Hhai University, Nanjing, Jiangsu 210098)

Abstract The toxicities of single and binary mixtures made of 1:1, 1:4, 4:1 toxic unit of parathion and dpterox to *Vibrio fischeri* were determined, respectively. And the joint toxicity was evaluated. The results indicated that the joint action of binary mixture obtained by the method of toxicity unit (TU), additive index(AI), similarity parameter () was antagonistic action, whereas that evaluated by mixture toxicity index(MII) was slightly different.

Key words Parathion; Dpterox; *Vibrio fischeri*; Joint toxicity; Evaluation

近年来,由于农业生产中农药的滥用或使用不当,导致水体和土壤污染逐渐加重。其中,有机磷农药的残留污染问题尤为突出。因此,如何评价它们对生态环境的毒性影响越来越为人们所关注^[1]。发光菌毒性检测是已被广泛应用的生物毒性测试方法之一。它可以简便、快速地测定环境中多种污染物的单项毒性和联合毒性^[2]。我国国家环保局也于1995年发布了急性毒性的测定方法——发光细菌法,又称Microtox方法^[3],可用于水样的生物急性毒性检测^[4]。目前,采用发光菌对农药毒性检测的研究还很少。袁东星等开展过蔬菜中有机磷农药浓度对发光菌发光强度的相关性试验,但是只停留在对单一毒性的测定^[5]。在自然界中,绝对意义上的单一污染是不存在的,污染往往具有伴生性和综合性。环境中的多种污染物质相互影响,产生表现形式不一的联合毒性作用(如拮抗、相加或协同作用)。因此,研究污染物质的联合毒性更具有实际意义。笔者研究了对硫磷和敌百虫对发光菌的单一毒性及以毒性单位1:1、1:4、4:1配比的二元混合物的联合毒性,并且对二元混合物的联合毒性进行评价,从而为水质、生态风险评价提供更可靠的依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试污染物。对硫磷和敌百虫为市售农药。用差减法准确称取农药于250 mL容量瓶中,加3% NaCl溶液,用超声清洗机溶解并定容。

1.1.2 供试生物。明亮发光杆菌T₃(*Photobacterium Phosphoreum*),购自中国科学院南京土壤研究所。采用的培养液为酵母浸出液0.5 g、胰蛋白胨0.5 g、NaCl 3 g、Na₂HPO₄ 0.5 g、KH₂PO₄ 0.1 g、甘油0.3 g,蒸馏水100 mL,调pH值至7.0±0.5,121 °C高压灭菌20 min后,备用。

1.2 培养方法 将发光菌冻干粉用0.5 mL 3% NaCl溶解,迅速转入50 mL培养液中,20 °C恒温培养,每24 h转接1次斜面,将培养好的第3代斜面置于4 °C冰箱中,备用。将培养好的菌种接入含有50 mL培养液的150 mL三角瓶内,20 °C恒温

振荡14~18 h,备用。

1.3 毒性测定 采用南京土壤研究所研制的GXY-2型生物毒性测定仪按照OECD标准实验方法^[6],测定农药溶液的15 min的毒性。

1.3.1 单一毒性的测定。吸取培养好的菌液1 mL,根据预试验,按等对数间距,用标准溶液和3% NaCl配制5个浓度组,各吸取2 mL于磨口具塞圆形比色管中,用2 mL 3% NaCl溶液作空白对照,每个浓度做3个平行。迅速吸取0.5 mL稀释菌液于各比色管中,加塞,振摇。15 min后用生物毒性测试仪测定发光强度,计算发光率。

$$\text{发光率} = \frac{\text{样品发光强度}}{\text{对照发光强度}} \times 100\% \quad (1)$$

对浓度和发光率进行回归分析,求出回归方程,应用直线内插法求得EC₅₀值(使发光抑制效果为对照的50%的化合物浓度)。

1.3.2 联合毒性的测定。根据单一化合物的EC₅₀值,按毒性单位1:1、1:4、4:1混合,设置5个试验浓度。试验方法及混合物对发光菌的联合毒性EC₅₀值计算方法同单一毒性测定。

1.4 联合毒性的评价方法 对于水中多种化学污染物的联合毒性的评价方法研究始于20世纪70年代^[7]。评价方法很多,目前主要有毒性单位法(TU)、相加指数法(AI)、混合毒性指数法(MII)、相似性指数法()、等效线图法(Isobole Plots)、剂量-反应曲线法(DRO)、QSAR模式等。笔者选取前4种方法(具体方法见参考文献[8])来评价敌百虫和对硫磷在3种不同配比下的联合毒性。

2 结果与分析

2.1 单一毒性评价 通过单一毒性试验得到不同浓度对硫磷和敌百虫对发光菌的相对发光率,将二者进行线性回归,得到线性方程与R²,通过直线内插法获得EC₅₀值。

表1表明,对硫磷的毒性强于敌百虫。参照美国发光菌测试仪发明人Blish提出的Microtox的急性毒性等级划分方法(表2)^[9],分析对硫磷和敌百虫的毒性。当相对发光度大于75%时,说明对水质的毒害较小,此时对硫磷和敌百虫的浓度分别为4.02、144.77 ng/L。

2.2 联合毒性评价 在单一毒性试验的基础上,按毒性单位1:1、1:4、4:1进行联合毒性试验,测定对硫磷和敌百虫对

发光菌的联合毒性的 EC_{50} 值, 计算得到 M 值、A 值、 λ 值、MII 值。

表1 对硫磷和敌百虫的单一毒性

化合物	线性方程	R^2	EC_{50} ng/L
对硫磷	$y = -1335.266 + 290.360x$	0.96	4.95
敌百虫	$y = -456.510 + 163.370x$	0.95	204.49

表2 美国 **Mardox** 毒性等级划分

毒性等级	相对发光度 %	毒性级别
	< 25	剧毒
	25 ~ 50	重毒
	50 ~ 75	中毒
	> 75	微毒
	100	无毒

表3 表明, 采用毒性单位评价法, M 值为 1.097 ~ 1.318, 均大于 1 和 M_0 , 表现为拮抗作用; 采用相加指数法, A 值在 - 0.097 ~ - 0.318, 均小于 0, 表现为拮抗作用; 采用相似性参数法, λ 值在 0.313 ~ 0.803 之间, 均小于 1 大于 0, 表现为拮抗或小于相加作用, 结合前面 2 种方法的评价结论, 此处应为拮抗作用; 采用混合毒性指数法, 毒性比为 1:1 和 4:1 的 MII 值小于 1 大小 0, 表现为部分相加作用, 而毒性比为 1:4 的 MII 值为 - 0.080, 小于 0, 表现为拮抗作用。采用毒性单位法 (M)、Marking 相加指数法和相似性参数 (λ) 得到的评价结果有较好的一致性, 而混合毒性指数法 (MII) 与前 3 种方法略

表3 对硫磷与敌百虫的联合毒性评价

混合比例	M	M_0	A	λ	MI
1:1	1.318	0.659	- 0.318	0.602	0.062
1:4	1.273	1.018	0.273	0.313	- 0.080
4:1	1.097	0.878	- 0.097	0.803	0.588

注: M 为各组分毒性单位之和, M_0 为 $M \cdot TU_{i\max}$ ($TU_{i\max}$ 表示混合物中毒性单位最大值); A 为相加指数; λ 为相似性参数; MI 为混合毒性指数。

有不同。这表明评价方法对联合毒性的结果也有一定的影响。林春等曾采用这 4 种方法对 2,4-二硝基甲苯与硝基苯衍生物对发光菌的联合毒性进行了研究^[8]。结果也表明采用毒性单位法、相加指数法、相似性参数法的结果一致, 而混合毒性指数法结果与前 3 种略有不同。这一结论与该文一致。

3 结论

研究表明, 对硫磷和敌百虫单独作用时, 对发光菌的相对发光率具有一定的抑制作用, EC_{50} 值分别为 4.95、204.49 ng/L, 对硫磷的单一毒性大于敌百虫。当对硫磷和敌百虫的浓度分别小于 4.02 ng/L、144.77 ng/L 时, 对水体的毒害作用很小。对硫磷和敌百虫在 1:1、1:4、4:1 混合配比下的联合毒性作用为拮抗作用。即, 在某 1 种或 2 种农药的使用剂量超过单一毒性的时候, 才能引起发光菌 50% 的发光抑制。所以, 在相关环境质量标准制定时, 只以单一毒性的数据为依据不甚合理, 应该考虑到化合物之间的联合作用。另外, 在农业生产中也应该注意到这 2 种农药的拮抗作用。在耕作季节施用农药时, 最好选用其中的一种, 从而保证药效的发挥。

参考文献

- [1] 魏东斌, 翟丽华, 董春宏. 取代苯化合物对发光菌急性毒性的测定及预测[J]. 环境科学, 2002, 23(1): 5.
- [2] 阎鹏, 孙礼, 李百祥. 利用发光菌快速检测环境污染物急性毒性的研究概况[J]. 环境与健康杂志, 2001, 18(4): 250-252.
- [3] KAISER KL E. Correlations of vibrio fischeri bacteria test data with bioassay data for other organisms[J]. Environmental Health Perspectives, 1998, 106(S2): 583-591.
- [4] 党亚爱, 王国栋, 辛宝平. 利用发光菌评价 17 种染料的毒性效应[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2003, 31(3): 183-187.
- [5] 袁东星, 邓永智, 林玉晖. 蔬菜中有机磷农药残留的发光菌快速检测[J]. 环境化学, 1997, 16(1): 77-82.
- [6] LIAO M. The transport characters of cadmium in soil and water system[J]. Soil Res, 1998, 35(2): 179-185.
- [7] 童建, 冯志英. 环境化学物的联合毒作用[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1994: 8.
- [8] 林春, 康立娟, 苏丽敏. 2,4-二硝基甲苯与硝基苯衍生物对发光菌的联合毒性[J]. 吉林大学学报: 理学版, 2002(40): 419-422.
- [9] 李秀珍, 李斌莲, 范俊欣, 等. 油田化学剂和钻井液生物毒性检测新方法及其毒性分级标准研究[J]. 钻井液与完井液, 2004, 21(6): 44-48.