

· 研究论文 ·

# 三种除草剂对大型溞 *Daphnia magna* 存活、生长和繁殖的影响

张欣<sup>\*1,2</sup>, 赵文<sup>1</sup>, 徐峰<sup>1</sup>

(1. 大连水产学院 水生生物国家重点实验室, 辽宁 大连 116023; 2 盘锦职业技术学院 经济管理系, 辽宁 盘锦 124010)

**摘要:**为了制定除草剂在水环境中的允许浓度和排放标准,参照美国公共卫生协会等编著的《水和废水标准检验法》以及我国制定的大型溞 *Daphnia magna* 毒性测定方法,进行了丁草胺、吡嘧磺隆、苄嘧磺隆 3种稻田常用除草剂对大型溞的 21 d慢性毒性试验。结果发现:随着除草剂浓度的升高,大型溞的产前发育期、产幼间隔期均缩短,每胎产幼数量先增加后减少;丁草胺各浓度处理组中,内禀增长率( $r_m$ )在  $0.1572 \sim 0.3140 \text{ d}^{-1}$  之间,变化较大;吡嘧磺隆各个浓度组的  $r_m$  相对平稳,为  $0.2066 \sim 0.2768 \text{ d}^{-1}$ ;大型溞在苄嘧磺隆处理组中的  $r_m$  比在其他两种除草剂中的高,为  $0.3341 \sim 0.3971 \text{ d}^{-1}$ 。在丁草胺处理组中,大型溞的日生殖量较少,低于吡嘧磺隆和苄嘧磺隆处理组。

**关键词:**丁草胺;吡嘧磺隆;苄嘧磺隆;大型溞;慢性毒性试验;内禀增长率

中图分类号: X171; X592

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2009)01-0121-05

## Effects of Three Herbicides on the Survival, Growth and Reproduction of *Daphnia magna*

ZHANG Xin<sup>1,2\*</sup>, ZHAO Wen<sup>1</sup>, XU Feng<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Hydrobiology, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, Liaoning Province, China;

2. Economic Management Department, Panjin Vocational and Technical College, Panjin 124010, Liaoning Province, China)

**Abstract:** The 21-day chronic toxicity test of butachlor, pyrazosulfuron-ethyl and bensulfuron-methyl to *Daphnia magna* was carried out according to "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" by American Public Health Association and "Toxicity Test Methods" by China. The results showed that when the concentration of these three herbicides increased, both exponential maturity and reproduction interval decreased, and the number of larva per embryo was up at the beginning but down in the end. The change of  $r_m$  is quite different, i.e., from  $0.1572 \text{ d}^{-1}$  to  $0.3140 \text{ d}^{-1}$ . While in various concentrations of pyrazosulfuron-ethyl, the change of  $r_m$  is relatively stable, that is from  $0.2066 \text{ d}^{-1}$  to  $0.2768 \text{ d}^{-1}$ . However, the  $r_m$  of *Daphnia magna* in bensulfuron-methyl is higher than in other two herbicides i.e. from  $0.3341 \text{ d}^{-1}$  to  $0.3971 \text{ d}^{-1}$ . In butachlor solution, the reproduction capacity of *Daphnia magna* is relatively smaller than in pyrazosulfuron-ethyl and bensulfuron-methyl.

**Key words:** butachlor; pyrazosulfuron-ethyl; bensulfuron-methyl; *Daphnia magna*; chronic toxicity test; intrinsic rate of increase

收稿日期: 2008-07-10; 修回日期: 2008-11-24

作者简介: \*张欣(1967-),男,辽宁盘锦人,通讯作者(Author for correspondence),副教授,从事水产养殖技术研究工作。联系地址:盘锦职业技术学院经济管理系;联系电话:0427-2936736; E-mail: zhangxin18286@yahoo.com.cn

丁草胺、吡嘧磺隆、苄嘧磺隆是我国目前广泛使用的几种高效除草剂,主要用于防除禾本科、多数阔叶杂草和莎草科杂草<sup>[1-3]</sup>。近年来随着除草剂使用频率的增加,其对水生生物已存在直接或潜在危害。

溞类是淡水生物重要类群,其对多种有毒污染物都很敏感,是一类很好的供试生物<sup>[4]</sup>。大型溞 *Daphnia magna* 21 d繁殖试验一直是评价和监测污染物对无脊椎动物慢性毒性的标准方法<sup>[5]</sup>。有关上述 3种除草剂对大型溞存活、生长和繁殖方面的影响尚未见报道。作者采用标准方法对 3种除草剂进行了大型溞 21 d繁殖试验,旨在为制定其在水环境中的允许浓度和排放标准提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试生物

大型溞 *Daphnia magna* 采自吉林农业大学校园内的淡水池塘,在 20 ±1 的恒温光照培养箱中进行纯系培养。挑出一只健壮个体进行孤雌繁殖后移出母溞继续培养幼溞,如此反复操作直至达到试验要求的幼溞数量<sup>[5,6]</sup>。其间投喂纯培养的淡水小球藻 *Chlorella* sp.,小球藻培养的密度约为 6 ×10<sup>6</sup> cells/mL,日投喂量为 10 mL。挑选溞龄小于 24 h的健康幼溞供试。

### 1.2 供试药剂

90%丁草胺 (butachlor)乳剂由哈尔滨利民农化技术有限公司生产,10%吡嘧磺隆 (pyrazosulfuron-ethyl)可湿性粉剂由江苏瑞农农药有限公司生产,10%苄嘧磺隆 (bensulfuron-methyl)可湿性粉剂由沈阳化工研究院试验厂生产。使用时,先配制母液,再按试验浓度逐级稀释。各母液现配现用,剩余的药品置于避光阴凉处保存。

### 1.3 慢性毒性试验方法

参照美国公共卫生协会等编著的《水和废水标准检验法》<sup>[7]</sup>以及我国制定的大型溞毒性测定方法 (GB/T13266 ~ 13267 - 91)中对大型溞的选择、培养等实验环境条件进行试验<sup>[8,9]</sup>。在 50 mL 广口瓶中盛放 30 mL 供试溶液,每瓶放 1只 12 ± 6 h的幼溞。试验共设 5个浓度组,每一浓度组 (包括对照)设 3次重复。采用半静态试验系统,用高速离心机在 3 900 r/min 下离心 3 000 mL 小球藻,离心之后的藻膏加 10 mL 水稀释,小球藻密度为 1.2 ×10<sup>6</sup> ~ 1.8 ×10<sup>6</sup> cells/mL,取其中 0.1 mL

放入试验液中,每天更换 1次试验液。更换试验液的同时取出新生幼溞,记录新生幼溞和死亡成溞的数量、母溞第一次怀卵和产卵时间、产卵量及每次产卵时间间隔及整个试验过程中的产卵时间及产卵量。根据上述数据编写生命表,其中生命表的编制包括日龄中值 ( $X$ )、存活率 ( $l_x$ )、净生殖量 ( $R_0$ )、平均时代时间 ( $T$ )和特定年龄生育率 ( $m_x$ ),周限增长率 ( $r_m$ ),按下式计算内禀增长率 ( $r_m$ )等数值<sup>[10]</sup>。

$$\sum_{x=0}^{\infty} e^{-r_m x} l_x m_x = 1 \quad R_0 = \sum l_x m_x$$

$$T = \ln(R_0) / r_m \quad = e^{r_m}$$

## 2 结果与分析

表 1 显示出 3种除草剂对大型溞生长及生殖的影响。苄嘧磺隆各浓度组中,大型溞的产前发育期和 21 d的产幼个数与对照组相比差异显著 ( $P < 0.05$ );而丁草胺各浓度组中,大型溞的产幼前发育期与对照组无明显差异,但在浓度 0.071 7 ~ 0.039 85 μL/L 的丁草胺中,21 d的大型溞产幼个数与对照组和浓度为 0.223 2 ~ 0.398 5 μL/L 处理组相比差异显著 ( $P < 0.05$ );吡嘧磺隆除浓度为 17.19 mg/L 下大型溞 21 d产幼个数与对照组相比差异显著 ( $P < 0.05$ )外,其余各组产前发育期和 21 d产幼个数均无明显差异。

三种除草剂使大型溞在产卵时间间隔上不存在显著差异,均在 3 d左右。各个浓度组中大型溞每胎产幼数均随浓度的升高而呈现先上升后下降的变化趋势。

由于苄嘧磺隆处理组的产卵时间较其他组别早 3 d,所以在试验中该组大型溞产幼代的代数较其他组别多。且每胎产幼数也比其他组别多一倍左右。

表 2 显示 3种除草剂对大型溞内禀增长率 ( $r_m$ )、平均时代时间 ( $T$ )、净生殖量 ( $R_0$ )等方面的影响。其中丁草胺各浓度组中,  $r_m$  变化较大,在 0.157 2 ~ 0.314 0 d<sup>-1</sup>之间;吡嘧磺隆各浓度组的  $r_m$  相对平稳,在 0.206 6 ~ 0.276 8 d<sup>-1</sup>之间;大型溞在苄嘧磺隆处理组中的  $r_m$  较在其他两种除草剂中要高,为 0.334 1 ~ 0.397 1 d<sup>-1</sup>。

大型溞在 3种除草剂不同浓度下的日生殖量变化趋势见图 1~3。可见,在丁草胺处理组中,大型溞的日生殖量较少,低于吡嘧磺隆和苄嘧磺隆处理组。

表 1 丁草胺、吡嘧磺隆、苄嘧磺隆对大型溞生长和繁殖的影响

Table 1 Effect of butachlor, pyrazosulfuron-ethyl and bensulfuron-methyl on growth and reproduction of *Daphnia magna*

除草剂 Herbicides	浓度 Concentration	产幼间隔 Reproduction interval /d	21 d实验期每胎产幼个数 Number of larva per batch during 21 days	产幼前发育期 Premature period /d
丁草胺 butachlor	0.000 0 $\mu\text{L}/\text{L}$	2.5 $\pm$ 2.1 a	17.50 $\pm$ 4.65 a	13.50 $\pm$ 2.81 a
	0.039 85 $\mu\text{L}/\text{L}$	1.7 $\pm$ 1.1 a	10.00 $\pm$ 9.31 a	12.50 $\pm$ 0.71 a
	0.071 73 $\mu\text{L}/\text{L}$	3.5 $\pm$ 0.7 a	30.33 $\pm$ 17.95 b	13.00 $\pm$ 0.00 a
	0.127 5 $\mu\text{L}/\text{L}$	3.5 $\pm$ 0.7 a	22.67 $\pm$ 15.18 b	12.00 $\pm$ 0.00 a
	0.223 2 $\mu\text{L}/\text{L}$	3.0 $\pm$ 0.0 a	8.50 $\pm$ 2.12 ab	17.00 $\pm$ 0.00 b
	0.398 5 $\mu\text{L}/\text{L}$	3.5 $\pm$ 0.7 a	8.50 $\pm$ 9.19 ab	13.00 $\pm$ 0.00 a
吡嘧磺隆 pyrazosulfuron-ethyl	0.00 mg/L	2.5 $\pm$ 2.1 a	17.50 $\pm$ 4.65 a	13.50 $\pm$ 2.81 a
	9.55 mg/L	3.3 $\pm$ 0.6 a	14.67 $\pm$ 3.30 a	15.33 $\pm$ 2.89 a
	17.19 mg/L	2.9 $\pm$ 1.1 a	27.92 $\pm$ 23.23 b	12.33 $\pm$ 0.58 a
	30.56 mg/L	3.8 $\pm$ 0.5 a	20.67 $\pm$ 7.91 a	12.00 $\pm$ 0.00 a
	53.48 mg/L	2.9 $\pm$ 1.3 a	23.50 $\pm$ 7.68 a	12.00 $\pm$ 0.00 a
	95.55 mg/L	2.3 $\pm$ 1.0 a	16.12 $\pm$ 6.70 a	13.66 $\pm$ 2.89 a
苄嘧磺隆 bensulfuron-methyl	0.00 mg/L	2.5 $\pm$ 2.1 a	17.50 $\pm$ 4.65 a	13.50 $\pm$ 2.81 a
	9.76 mg/L	3.4 $\pm$ 0.7 a	33.58 $\pm$ 18.47 b	9.00 $\pm$ 0.00 b
	17.57 mg/L	3.1 $\pm$ 0.9 a	41.14 $\pm$ 18.54 b	10.00 $\pm$ 1.73 b
	31.23 mg/L	3.4 $\pm$ 1.6 a	26.47 $\pm$ 15.88 ab	9.00 $\pm$ 0.00 b
	54.66 mg/L	2.6 $\pm$ 0.9 a	30.72 $\pm$ 21.71 ab	9.00 $\pm$ 0.00 b
	97.60 mg/L	2.9 $\pm$ 1.4 a	32.77 $\pm$ 26.04 ab	9.00 $\pm$ 0.00 b

注: 同一指标下, 相同字母表示差异不显著, 不同字母表示在  $P=0.05$  水平差异显著。

Note: Values followed by different letters within same row are significantly different at 5% level

表 2 大型溞在丁草胺、吡嘧磺隆、苄嘧磺隆不同浓度下的内禀增长率及其有关参数

Table 2 The intrinsic rate of increase and some relevant parameters of *Daphnia magna* in exposure of butachlor, pyrazosulfuron-ethyl and bensulfuron-methyl

除草剂 Herbicides	浓度 Concentration	内禀增长率 $r_m$ Intrinsic rate of increase /d <sup>-1</sup>	周限增长率 Finite rate of increase	平均世代时间 Mean generation time T/d	净生殖率 $R_0$ Net reproduction rate
丁草胺 butachlor	0.039 85 $\mu\text{L}/\text{L}$	0.181 3	1.1988	16.52	13.33
	0.071 73 $\mu\text{L}/\text{L}$	0.314 0	1.368 9	14.37	30.33
	0.127 5 $\mu\text{L}/\text{L}$	0.303 2	1.354 1	13.92	22.67
	0.223 2 $\mu\text{L}/\text{L}$	0.157 2	1.170 2	17.64	5.67
	0.398 5 $\mu\text{L}/\text{L}$	0.216 6	1.241 9	12.50	5.00
	吡嘧磺隆 pyrazosulfuron-ethyl	9.55 mg/L	0.206 6	1.229 5	16.29
17.19 mg/L		0.262 2	1.299 8	16.50	85.00
30.56 mg/L		0.276 8	1.318 9	14.91	41.33
53.48 mg/L		0.270 2	1.310 2	15.93	80.33
95.55 mg/L		0.245 8	1.278 6	15.17	41.67
苄嘧磺隆 bensulfuron-methyl		9.76 mg/L	0.367 2	1.443 7	13.34
	17.57 mg/L	0.334 1	1.396 6	14.40	122.67
	31.23 mg/L	0.360 6	1.434 2	12.54	90.00
	54.66 mg/L	0.397 1	1.487 4	12.75	158.00
	97.60 mg/L	0.369 1	1.446 4	13.44	142.67

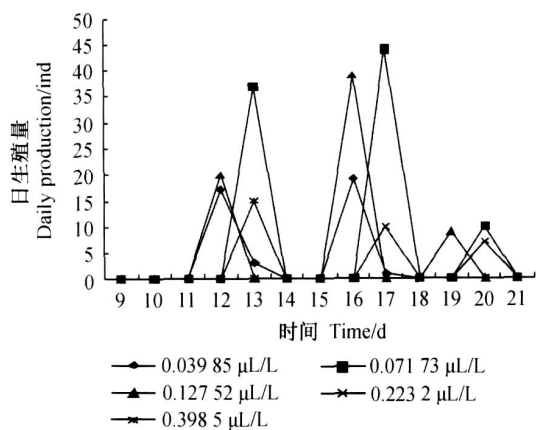


图1 丁草胺浓度对大型溞日生殖量的影响

Fig. 1 Effects of butachlor on daily reproduction of *Daphnia magna*

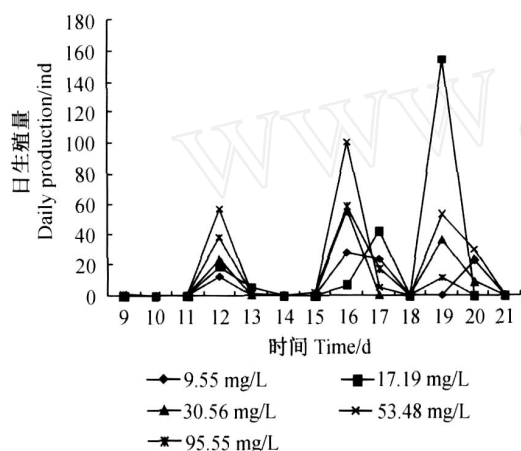


图2 吡嘧磺隆浓度对大型溞日生殖量的影响

Fig. 2 Effects of pyrazosulfuron-ethyl on daily reproduction of *Daphnia magna*

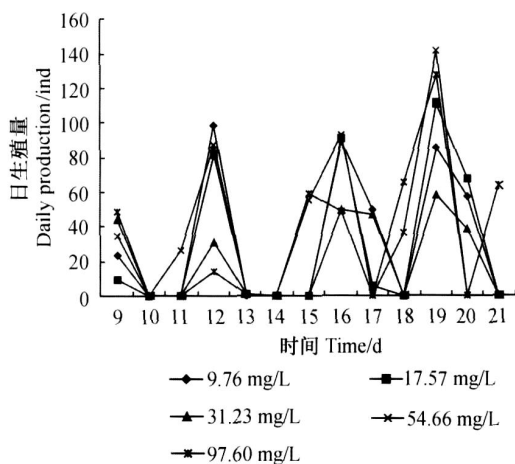


图3 苄嘧磺隆浓度对大型溞日生殖量的影响

Fig. 3 Effects of bensulfuron-methyl on daily reproduction of *Daphnia magna*

在3种除草剂中,大型溞产卵时间比较接近,除苄嘧磺隆在第9 d产出第一胎幼溞外,其他均在12 d首次产卵;产幼时间间隔也均为3 d左右。不同浓度处理组大型溞均于同一天产出幼溞,但产卵量不同,苄嘧磺隆组产卵数较其他两组多。

在21 d试验中,各浓度处理组大型溞的日生殖量均出现不同程度的高峰,大型溞生殖量最大值出现在3种除草剂中间浓度组,说明在安全浓度范围内,一定浓度的除草剂对大型溞的繁殖有明显的刺激作用。

大型溞在3种除草剂不同浓度下21 d累计生殖量的变化趋势见图4~6。在丁草胺各浓度组中,大型溞的21 d累计生殖量较少,吡嘧磺隆次之,苄嘧磺隆最高。

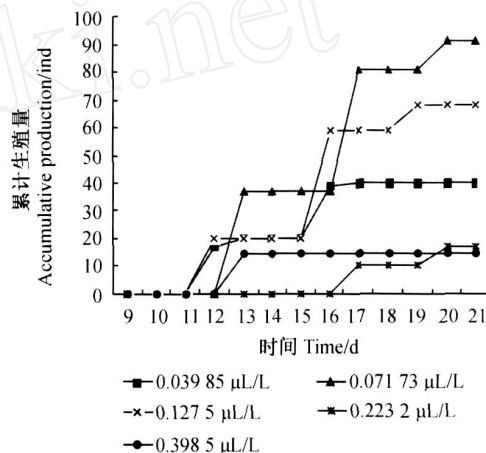


图4 丁草胺浓度对大型溞累计生殖量的影响

Fig. 4 Effects of butachlor on accumulative reproduction of *Daphnia magna*

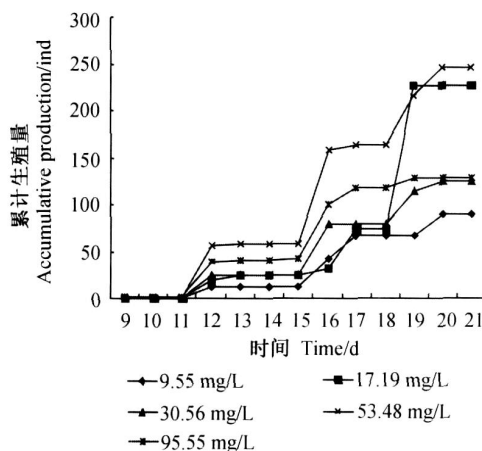


图5 吡嘧磺隆浓度对大型溞累计生殖量的影响

Fig. 5 Effects of pyrazosulfuron-ethyl on accumulative reproduction of *Daphnia magna*

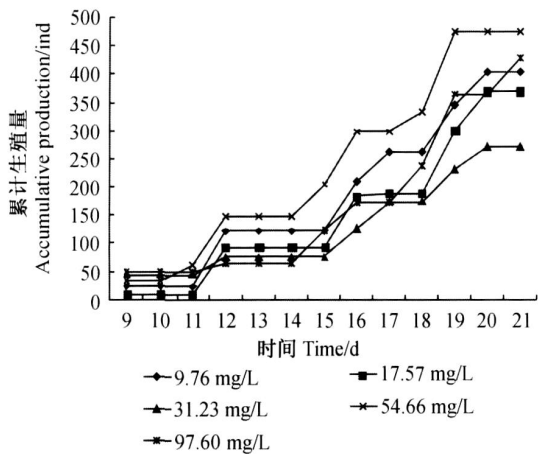


图 6 苄嘧磺隆浓度对大型溞累计生殖量的影响

Fig 6 Effects of bensulfuron-methyl on accumulative reproduction of *Daphnia magna*

### 3 讨论

本实验结果显示,丁草胺处理组从浓度大于  $0.223 \mu\text{L/L}$  开始,大型溞 21 d 生殖量明显降低 ( $P < 0.05$ );而在吡嘧磺隆和苄嘧磺隆不同浓度组中均呈现生殖量上升的趋势。3种除草剂中,乳剂类的丁草胺比其他两种粉剂除草剂的毒性大得多。这主要是因为脂溶性物质在水溶液中溶解度很小,低浓度的溶液即可对水生生物产生很大的毒性,这些物质可能被藻类等所吸附,再被溞食用,继而产生毒性<sup>[11]</sup>。

本实验结果表明,大型溞在苄嘧磺隆各浓度处理中产前发育期较对照组提前 3~4 d,这应该主要归因于在动物生殖允许范围内,一定剂量的有毒物质可以刺激动物性腺发育,使其提前达到性成熟<sup>[12]</sup>。低浓度药物在刺激动物提前性成熟的同时,也刺激生殖量的增加<sup>[13]</sup>。苄嘧磺隆中大型溞 21 d 的生殖量明显高于对照组也正说明了苄嘧磺隆是一种低毒农药。

丁草胺、吡嘧磺隆和苄嘧磺隆作为 3 种广泛应用的除草剂,是否可通过食物链的传递对人类健康带来不利影响,还有待进一步研究。

### 参考文献:

[1] LN Chang-fu (林长福). 甲基苄富隆在中国的应用与开发 [J]. Pestic Sci (农药), 2000, 39 (3): 11-12.

- [2] HU Xiao-xing (胡笑彤). 我国农药工业的现状与发展方向 [J]. Pestic Sci (农药), 1998, 37 (6): 7-10.
- [3] AN Qiong (安琼), LUO Yongming (骆永明), NI Jun (倪俊), et al 水田土壤中除草剂丁草胺残留的测试方法及其应用 [J]. Soil (土壤), 2000, 32 (2): 107-111.
- [4] ZHUANG De-hui (庄德辉), LIANG Yan-ling (梁彦龄), SUN Mei-juan (孙美娟), et al 六六六对大型溞生态的影响 [J]. Acta Hydrobiologica Sinica (水生生物学集刊), 1984, 8 (3): 259-269.
- [5] CABEJSEK I, STASIAK M. Investigations on the Influence of Some Metals on Aquatic Life Using the *Daphnia magna* Index [M]. Roczn Zaki Hig Warsz, 1960, 11: 303-312.
- [6] Editorial Board of Manual of Monitoring Aquatic Organisms, Environmental Protection Administration of China Manual of Monitoring Aquatic Organisms (国家环保局水生生物监测手册编委会). Manual of Monitoring Aquatic Organisms (水生生物监测手册) [M]. Nanjing (南京): Southeast University Press (东南大学出版社), 1993: 192-202.
- [7] APHA (美国公共卫生协会). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (20th Edition) [M]. Beijing (北京): China Architecture & Building Press (中国建筑工业出版社), 1985: 762-766.
- [8] GB/T13266-91. Water Quality Acute Toxic Method of Substances to *Daphnia magna* [水质、物质对蚤类 (大型蚤)急性毒性测定方法] [S].
- [9] ZHOU Yong-xin (周永欣), ZHANG Zong-she (章宗涉). Chronic Toxicity Test for Aquatic Organism (水生生物毒性实验方法) [M]. Beijing (北京): Agriculture Press (农业出版社), 1989: 114-206.
- [10] HE Zhi-hui (何志辉), ZHAO Wen (赵文). Aquaculture Waters Ecology (养殖水域生态学) [M]. Dalian (大连): Dalian Press (大连出版社), 2001: 77.
- [11] FLIEDNER A. Ecotoxicity of Poorly Water-soluble Substances [J]. Chemosphere, 1979, 35: 295-305.
- [12] YE Wei-hong (叶伟红), LIU Wei-ping (刘维屏), TAN Ya-jun (谭亚军). 氟氯菊酯对大型溞的亚慢性毒性及其恢复实验 [J]. Pestic Sci (农药), 2004, 43 (2): 86-89.
- [13] ZHUANG De-hui (庄德辉), LI Zhi-sheng (李植生). 浮选药剂对溞类的毒性研究 [J]. Acta Hydrobiologica Sinica (水生生物学报), 1989, 13 (3): 240-249.

(Ed. JIN S H)