

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897-20140709001

赵颖,姚苏梅,刘毅华等. 毒死蜱对我国南方稻区水域中 12 种淡水鱼的毒性[J]. 生态毒理学报 2014, 9(6): 1181-1188

Zhao Y, Liu Y H, Yao S M, et al. Toxic effects of chlorpyrifos on different species of freshwater fish in Southern China [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(6): 1181-1188 (in Chinese)

毒死蜱对我国南方稻区水域中 12 种淡水鱼的毒性

赵颖¹, 姚苏梅², 刘毅华³, 肖鹏飞¹, 耿翠敏¹, 朱国念^{1,*}

1. 浙江大学农药与环境毒理研究所 杭州 310029

2. 浙江农林大学暨阳学院生态环境研究与发展中心 诸暨 311800

3. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所 富阳 311400

收稿日期: 2014-07-09

录用日期: 2014-09-12

摘要: 毒死蜱作为稻田常用农药,普遍存在于稻区沟渠、池塘和河流中,从而对生活在其中的鱼类具有潜在风险。通过短期暴露试验,比较了毒死蜱在纯水、水-沉积物体系中对淡水鱼的毒性效应,进一步研究了毒死蜱在不同鱼体内的生物富集作用,以及对鱼脑 AchE 活性的影响。试验结果表明:毒死蜱对 12 种淡水鱼均表现为高毒或剧毒,最敏感的是太阳鱼,但体系中沉积物的存在会通过吸附作用降低农药对鱼类的毒性;毒死蜱在鱼体内表现为中等或高富集性,其中斑马鱼的富集系数最大;毒死蜱对鱼脑 AchE 酶活性有明显抑制作用,其中以虹鳟最敏感。研究结果为稻田常用农药对水生态环境中鱼类安全的风险性评价提供了科学依据。

关键词: 淡水鱼; 毒死蜱; 急性毒性; 物种敏感性分布; 生物富集; 乙酰胆碱酯酶

文章编号: 1673-5897(2014)6-1181-08 **中图分类号:** X171.5 **文献标识码:** A

Toxic Effects of Chlorpyrifos on Different Species of Freshwater Fish in Southern China

Zhao Ying¹, Liu Yihua², Yao Sumei³, Xiao Penfei¹, Gen Cuimin¹, Zhu Guonian^{1,*}

1. Institute of Pesticide and Environmental Toxicology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China

2. R & D Center for Eco-environmental Science and Technology, Zhejiang Agriculture and Forestry University, Zhujiaji 311800, China

3. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, China

Received 9 July 2014

accepted 12 September 2014

Abstract: Chlorpyrifos, a commonly used insecticide, is widespread in the paddy field, ditch, pond and river and accordingly, it poses a potential risk to fish in the aquatic environment. Using short term exposure measurement, the toxicity of chlorpyrifos to freshwater fish in the aquatic ecosystem and water-sediment system was examined, with the further investigation of bioaccumulation of chlorpyrifos in different fish species and influence of chlorpyrifos on activity of AchE in fish-brain. As a result, it showed that chlorpyrifos was high toxic or hypertoxic to 12 species of freshwater fishes, of which *Lepomis gibbosus* was identified as the most sensitive species, despite that adsorption of pesticides by environmental sediments decreased their toxicities to fishes. In addition, enrichment of chlorpyrifos in

基金项目: 国家自然科学基金(No. 31101458)

作者简介: 赵颖(1988-),女,硕士,研究方向为农药与生态毒理研究, E-mail: zhaoying88@zju.edu.cn

* 通讯作者: (Corresponding author) E-mail: zhugn@zju.edu.cn

fishes was shown in a moderate or high level, and moreover, bioconcentration factor was calculated highest in *Danio rerio*. Inhibitory effect of chlorpyrifos on brain AChE activity was also remarkable and *Oncorhynchus mykiss* was identified as the most sensitive species. Taken together, the data presented in this work provide scientific basis for the risk assessment of the pesticides commonly used in the paddy field to the fishes in the aquatic ecosystem.

Keywords: freshwater fish; chlorpyrifos; acute toxicity; species sensitivity distribution; bioaccumulation; AChE

稻田施药和排灌导致农药进入到稻区沟渠、池塘、河流等水域中,进而对水域中淡水鱼类的生长繁殖产生影响,甚至出现邻近养殖水体出现鱼类急性中毒死亡事件,或者造成水体慢性污染而引发系列生态污染事件^[1]。长久以来都是采用农药对鱼类的 96h- LC_{50} 来评价其毒性,但是在这种急性毒性试验中存在个体之间、以及种间差异,容易造成毒性低估的情况。近些年来,采用物种敏感性分布 Species Sensitivity Distribution (SSD) 对化合物进行毒性评价逐渐开始应用,通过 SSD 结果能够反应化合物的生态风险,如 5% 危害浓度 (HC_5) 及其不同暴露浓度对淡水生物的潜在影响比例 (PAF)^[2]。胡习邦^[3]等构建了邻苯二甲酸二辛酯对淡水生物的 SSD 曲线用于风险评价, Feng^[4]等采用锌的毒性数据来测试 SSD 模型筛选出最敏感的物种。本文对稻区多种淡水鱼对毒死蜱的敏感性进行了比较研究,用于评价毒死蜱对淡水鱼种的风险。

SSD 反映了不同鱼种对农药的表观毒性敏感性,而农药在各种鱼体内的富集,及其对蛋白酶活性的影响,是表观毒性的内在层面,也是揭示表观毒性差异的原因所在。Sharbidre A A^[5]检测到毒死蜱对鱼大脑、肝脏和腮的氧化相关酶可能作为评价水污染的生物标志物。另有文献报道毒死蜱对鲤鱼和胡子鲶等食用鱼的蛋白酶体系活性产生显著影响^[6-7]。而酶活与富集效应相结合的报道较少,国内仅见夏锦瑜等检测了毒死蜱对鲫鱼的酶活效应和富集效应^[8]。毒死蜱相关报道中已对淡水鱼进行了较多研究,而关于毒死蜱对淡水鱼 SSD 方面的研究甚少。因而,本文系统地展开毒死蜱对南方常见鱼种的毒性效应研究,构建未见报道的淡水鱼种 SSD,研究了水体中沉积物的存在对毒死蜱毒性效应的影响,并结合急性毒性试验进行生物富集效应和鱼脑 AChE 影响研究。

1 实验设计 (Experimental design)

1.1 生物材料

用于急性毒性测定的试验生物共 12 种,分属于 5 个目 8 个科,其中斑马鱼、稀有鮡鲫、虹鳟、罗非

鱼、太阳鱼、红箭为常见的模式生物,十字鱼为常见试验鱼种,麦穗鱼、鳊鱼、弹涂鱼、黑鱼、食蚊鱼为本地物种,均为淡水鱼。分属于鲤科、脂鲤科、太阳鱼科、丽鱼科、虾虎鱼科、鳢科、鲈科。使用循环流水养殖设备驯养试验鱼种,一天饲喂两次颗粒/薄片鱼粮,试验用鱼到达实验室后至少驯养一周后才能用于试验,驯养期间死亡率不能高于 10%。12 种鱼的科属、品种、拉丁名和体长体重规格见表 1。受试生物的生长阶段均为幼鱼生长期。

1.2 试剂与仪器设备

毒死蜱原药 (98.2%),浙江新农化工有限公司。丙酮、氯化钠、无水硫酸钠、乙腈、乙酸乙酯试剂均为分析纯。pH 酸碱缓冲液,95% 乙醇,88% 磷酸,蒸馏水,牛血清白蛋白,考马斯亮蓝。

10 L 和 20 L 圆柱体玻璃缸。百分之一电子天平,万分一电子天平。毫米刻度尺。1 mL 的玻璃匀浆器,1 mL 具塞塑料离心管,冰格,容量瓶,比色皿,移液枪,解剖剪,镊子。温度控制仪,光照控制仪,铝合金平台架,超声仪,气流烘干器, TOSHIBA 冰箱。

USA-42000 型交直两用气泵、RE-2000 旋转蒸发器、制冷机、真空泵、XT5916-D2192-R + 104 型低温恒温控制液浴槽。Agilent 气相色谱仪,6890 Series GC System,7683B Series Injector,色谱柱 HP-5, Agilent Technologies Inc. Catalog. 30 m Length $\times$ 0.320 mm I. D. $\times$ 0.25 μ m Film,温度范围 -60 $^{\circ}$ C ~ 325 $^{\circ}$ C。

1.3 急性毒性试验

采用静态实验方法,试验周期 96 h,正式试验设置了 5 个浓度处理和 1 个空白对照。每个处理组用水体积为 8 L,试验组分别放入试验用鱼 8 尾或 7 尾,每个处理(包括对照)分别设置 3 个重复。用丙酮配制高浓度的母液,按照需要配制 10^2 、 10^3 、 10^4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的农药母液,加药时水中丙酮浓度不超过万分之一。在加药过程中,先把母液与水均匀混合后再放入实验鱼,试验过程中不换水,不喂食。正式实验前进行预备试验,确定正式试验浓度范围,正式试验开始后记录 24、48、72 和 96 h 的鱼死亡数,死亡个体及时捞出。

表 1 试验淡水鱼种类、来源与规格(n = 10)
Table 1 Species and specification of tested freshwater fish(n = 10)

目分类 Order classification	科分类 Family classification	鱼种类 Fish species	拉丁名 Latin Name	来源 Source	平均体长 /cm Average body length ± SD/cm	平均体重/g Average weight ± SD/g
鲤形目 Cypriniformes	鲤科 Cyprinidae	麦穗鱼 P. parva	Pseudoras boraparva	杭州市吴山花鸟市场 Hangzhou wushan flower market	3.045 ± 0.352	0.417 ± 0.177
		斑马鱼 D. rerio	Daniorerio	杭州市明红水族馆 Hangzhou minghong aquarium	2.948 ± 0.130	0.375 ± 0.075
		鳊鲂 R. sinensis	Rhodeus sinensis	诸暨市基地鱼塘 Zhuji base pond	2.420 ± 0.263	0.372 ± 0.136
		稀有鮡鲫 G. rarus	Gobiocypris rarus	武汉中科院水生生物所 Chinese academy of sciences' aquat- ic creatures in Wuhan	2.248 ± 0.163	0.189 ± 0.044
脂鲤目 Characiformes	脂鲤科 Characidae	十字鱼 H. anisitsi	Hyphessobrycon anisitsi	杭州市明红水族馆 Hangzhou minghong aquarium	2.572 ± 0.163	0.361 ± 0.107
	太阳鱼科 Centrarchidae	太阳鱼 L. gibbosus	Lepomis gibbosus	杭州农科院水产研究所 Hangzhou academy of agricultural sci- ences' fisheries research institute	1.997 ± 0.141	0.170 ± 0.063
鲈形目 Perciformes	丽鱼科 Cichlidae	罗非鱼 T. mossambica	Tilapia mossambica	广州市水产研究所 Guangzhou institute of aquaculture	2.097 ± 0.090	0.301 ± 0.039
	虾虎鱼科 Gobiidae	弹涂鱼 B. pectinirostris	Boleophthalmus pectinirostris	诸暨市基地鱼塘 Zhuji base pond	4.218 ± 0.240	1.013 ± 0.210
	鳢科 Channidae	黑鱼 O. argus	Ophicephalus argus	广州市水产研究所 Guangzhou institute of aquaculture	3.884 ± 0.128	0.651 ± 0.086
鲷形目 Cyprinodontiformes	鲷科 Oryziatidae	红箭 X. helleri	Xiphophorus helleri	杭州市明红水族馆 Hangzhou ming hong aquarium	3.618 ± 0.201	0.932 ± 0.272
		食蚊鱼 G. affinis	Gambusia affinis	诸暨市基地沟渠 Zhuji base ditch	1.839 ± 0.088	0.120 ± 0.033
鲑形目 Salmoniformes	鲑科 Salmonidae	虹鳟 O. mykiss	Oncorhynchus mykiss	建德市新安江养殖公司 Jiande xinan river breeding company	4.194 ± 0.185	1.094 ± 0.123

水-沉积物体系: 沉积物来源于池塘沉积物, 有机质含量为 1.8%。在 10 L 圆柱形玻璃缸中先加入 2 kg 晒干的池塘沉积物, 再缓慢加入 8 L 曝气自来水, 静置 24 h, 待沉积物完全下沉且水层澄清。将农药母液加入水层中, 再用玻璃棒缓慢搅拌混匀, 避免搅动沉积物。受试物溶液搅拌均匀后 1 h, 取 0 d 水样一次, 并将试验鱼种放入受试物溶液中。试验期间不喂食, 48 h 和 96 h 分别取水样和沉积物样品。

1.4 富集试验

以 20 L 玻璃缸为试验容器, 试验中每个容器中放置曝气自来水 16 L, 将 3 种农药配制成母液形式, 试验时将母液稀释到曝气水中, 并用玻璃棒搅拌均匀。试验药液配制完成后, 将试验用鱼缓慢放入试验药液中, 每个玻璃缸放置 25 尾鱼(斑马鱼、罗非鱼、鳊鲂 3 个鱼

种), 平均体重斑马鱼约 0.5 g、鳊约 0.8 g、罗非鱼约 0.6 g。富集试验周期为 28 d, 每隔 3 d 换试验药液一次, 同时 3、5、8、14、21、28 d 取鱼体样品, 每个玻璃缸中取 3~4 尾鱼, 测鱼体中毒死蜱残留量。

鱼体中农药提取方法: 称取鱼体样品 2.0 g(将取样的 3~4 尾鱼剪成 0.5 cm 左右的鱼块, 充分混合均匀后从中取 2.0 g 样品), 放入研钵, 加入 1:1 的无水 Na₂SO₄, 用研钵均匀研碎成粉末状。将磨碎的鱼体转移到离心管中, 用 10 mL 乙酸乙酯涮洗研钵并合并至离心管, 再向离心管中加入 15 mL 乙酸乙酯。超声提取 60 min, 抽滤至玻璃梨形瓶, 再用少量乙酸乙酯淋洗。减压浓缩近干, 用乙酸乙酯定容至 2 mL, 过 0.22 μm 有机滤膜到进样瓶, 待气相色谱检测。

仪器检测条件: Agilent 气相色谱 ECD, 色谱柱

HP-5 进样口 250℃ 检测器 280℃ 升温程序 160℃ 保持 1 min, 以 10℃·min⁻¹ 升温至 220℃ 并保持 4 min, 再以 30℃·min⁻¹ 升温至 250℃, 共 12 min, 毒死蜱的保留时间为 7.99 min。

1.5 酶活性测试

按照急性毒性测试结果的 LC₁₀ 浓度对 12 种受试鱼种进行 96 h 毒性暴露, 试验设置 CK 空白对照组, 每个试验组设立 3 个平行, 试验期间不喂食(暴露期间受试鱼无死亡现象)。试验期间 96 h 取样, 将鱼样本进行鱼脑解剖, 测定 AchE 活性, 检测方法参考考马斯亮蓝蛋白含量测定法与乙酰胆碱显色反应法^[9]。蛋白含量测取鱼脑酶蛋白提取液作为检测样品, 取 1 支 10 mL 玻璃试管, 准确加入 50 μL 样品提取液, 再加入 0.9 mL 蒸馏水, 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 试剂, 充分混合, 室温放置 30 min 后测定 OD₅₉₅, 记录 595 nm 波长的吸光度, 对照标准曲线计算样品蛋白含量。AchE 酶活测定需底物 ATC 和显色剂 DTNB, 反应液配制方法如下: 4.7 mL 0.1 mol·L⁻¹ PBS (pH 7.5) + 50 μL 37.5 mmol·L⁻¹ ATC + 250 μL 12 mmol·L⁻¹ DTNB。将鱼脑 AchE 酶提取液放置在冰浴中待用, 将反应液放入离心管并在水浴中 37℃ 温浴 5 min。取 3 mL 温浴完成的反应液加入比色皿中, 于紫外分光光度计上调零(波长设置为 405 nm), 然后快速加入 50 μL 冰浴的鱼脑 AchE 酶提取液, 并用枪头快速混匀(不超过 2 s), 开始测定 3 min 内的吸光度变化曲线, 读取 0 时刻和 3 min 的 OD₄₀₅, 重复测定 3 次。

AchE 酶活力计算公式: $U = V \times A \times 10^6 / (v \times k \times L \times C)$

V: 反应体系的总体积 3.05 mL; A: 吸光度随时间变化率; v: 酶活测定时所取酶提取液的体积(50 μL); K: 消光系数(L·(mmol·mm)⁻¹) K = 1.36 (DTNB 的消光系数); C: 酶蛋白的浓度(mg·L⁻¹); L: 比色皿光程(10 mm)。

1.6 数据处理

数据分析采用 DPS(浙江大学)统计软件, 计算 LC₅₀ 和 LC₁₀ 并将毒性数据在统计软件中使用曲线模型 Richards 模型进行拟合。Richards 数学模型函数的参数方程为:

$$F(x) = \frac{a}{[1 + c \cdot \exp(-b \cdot x)]^{1/k}}$$

注: F(x) 表示累计概率; x 表示急性毒性 LC₅₀ 的对数值; a、b、c、k 分别表示 Richards 模型的参数。

SSD 曲线绘制步骤: 获取 12 种淡水鱼的毒性数据, 即 96h 急性毒性 LC₅₀; 将毒性数据 LC₅₀ 从小到大

排列并编号; 以毒性数据 LC₅₀ 的对数值为横坐标, 以每个数据的编号除以数据总数加 1 (即累计概率, 潜在危害比例) 为纵坐标作图; 本文中共 12 种受试生物, 将每种生物进行 1、2、3……12 编号, 累计概率即为编号除以 13 (= 12 + 1)。应用 DPS 软件中的 Richards 模型对这些数据进行参数拟合。

酶活抑制率计算公式:

$$\text{抑制率}\% = \frac{\text{空白对照酶活} - \text{受试组酶活}}{\text{空白对照酶活}}$$

2 结果与分析(Result and analysis)

2.1 纯水体系中毒死蜱对淡水鱼的 SSD

试验测定了毒死蜱对 12 种鱼的 96h 急性毒性, 每个浓度重复 3 次, 通过 DPS 处理软件计算出相应的 96h-LC₅₀、95% 置信区间以及相关系数 R²。结果见表 2, 不同科的鱼种对农药的敏感性存在显著差异, 96h-LC₅₀ 分布在 0.001 ~ 0.306 mg·L⁻¹ 之间。根据农业部制定的化学物质(包括农药)对鱼类的毒性判定标准(分为剧毒、高毒、中毒、低毒和微毒 5 个等级)^[10], 本实验中得出毒死蜱对淡水鱼类表现为高毒或剧毒: 在 12 种受试物种中, 毒死蜱对 3 个鱼种为高毒, 9 个鱼种为剧毒。其中 3 个物种的 LC₅₀ ≤ 0.01 mg·L⁻¹, 分别为太阳鱼 0.001 mg·L⁻¹、稀有鮎鲫 0.005 mg·L⁻¹、虹鳟 0.008 mg·L⁻¹。

采用上述急性毒性数据, 用 Richards 模型拟合毒死蜱对淡水鱼 SSD 曲线, 由 DPS 数学统计软件计算得到拟合方程, 拟合曲线见图 1。由图可见, 对毒死蜱最敏感和最不敏感的鱼种分别是: 太阳鱼和食蚊鱼。鲤科的 4 种鱼(麦穗鱼、斑马鱼、鲮鱼、稀有鮎鲫)的敏感性分布存在显著差异, 敏感性排序为: 稀有鮎鲫 > 麦穗鱼 > 鲮鱼 > 斑马鱼; 而鲈形目下属的鱼种(太阳鱼、罗非鱼、弹涂鱼)敏感性分布相对一致。

2.2 水-沉积物体系中毒死蜱对淡水鱼的毒性

试验结果显示, 水-沉积物体系中的毒死蜱对鱼类的毒性明显低于纯水体系。由图 2 可见, LC₅₀ 浓度下鱼类没有出现死亡现象, 而 LC₉₀ 浓度下的 4 种受试鱼种死亡率均低于 50%。通过比较毒死蜱对 4 种受试鱼种的死亡率可知, SSD 中属于敏感性较高的太阳鱼死亡率反而低于敏感性低的食蚊鱼, 这一现象原因可能是沉积物的吸附饱和作用。因而, 在水-沉积物体系中由于沉积物的吸附作用使水中农药浓度迅速降低, 此现象可从图 3 ~ 图 4 证实, 从而对鱼类毒性显著降低。图 3 ~ 图 4 可明显看到 96 h 试验期间水中农药浓度下降, 而沉积物中农药浓度上升。

表 2 毒死蜱对 12 种鱼的急性毒性
Table 2 Acute toxicity of chlorpyrifos on 12 species of fish

受试鱼种 Fish species	96h-LC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	毒性等级 Toxicity grade	95% 置信区间 95% confidence interval	相关系数/ R ² Correlation/ R ²
鳊鱼 R. sinensis	0.144	高毒 High-toxic	0.026 ~ 2.208	0.834
弹涂鱼 B. pectinirostris	0.021	剧毒 Hyper toxic	0.007 ~ 0.052	0.966
黑鱼 O. argus	0.101	高毒 High-toxic	0.059 ~ 0.147	0.964
红箭 X. helleri	0.014	剧毒 Hyper toxic	0.009 ~ 0.024	0.936
麦穗鱼 P. parva	0.042	剧毒 Hyper toxic	0.022 ~ 0.067	0.916
食蚊鱼 G. affinis	0.306	高毒 High-toxic	0.206 ~ 0.495	0.892
太阳鱼 L. gibbosus	0.001	剧毒 Hyper toxic	0.001 ~ 0.002	0.950
罗非鱼 T. mossambica	0.025	剧毒 Hyper toxic	0.016 ~ 0.037	0.969
虹鳉 O. mykiss	0.008	剧毒 Hyper toxic	0.005 ~ 0.013	0.948
斑马鱼 D. rerio	0.291	高毒 High-toxic	0.200 ~ 0.458	0.872
十字鱼 H. anisitsi	0.241	高毒 High-toxic	0.149 ~ 0.494	0.897
稀有鮡鲫 G. rarus	0.005	剧毒 Hyper toxic	0.003 ~ 0.007	0.988

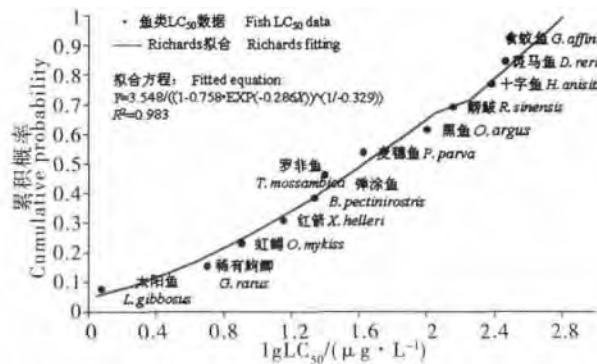


图 1 毒死蜱对 12 种鱼 LC₅₀ 的 SSD 曲线

Fig. 1 SSD curve for chlorpyrifos on LC₅₀ of 12 species of fish

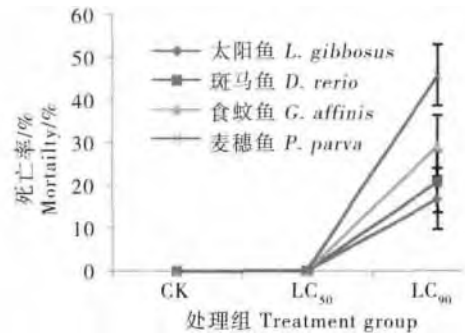


图 2 水-沉积物体系中毒死蜱对 4 种鱼的急性毒性 (n = 3)

Fig. 2 Acute toxicity of chlorpyrifos to 4 kinds of fish in water-sediment system (n = 3)

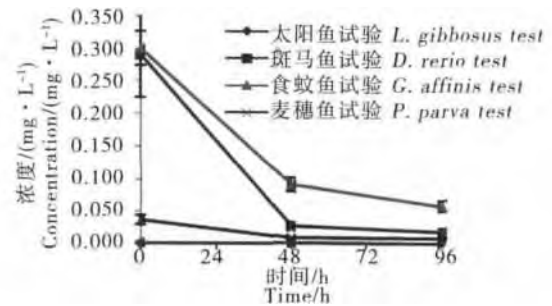


图 3 LC₅₀ 毒死蜱在水中的变化曲线 (n = 3)

Fig. 3 Chlopyrifos changes of LC₅₀ in water (n = 3)

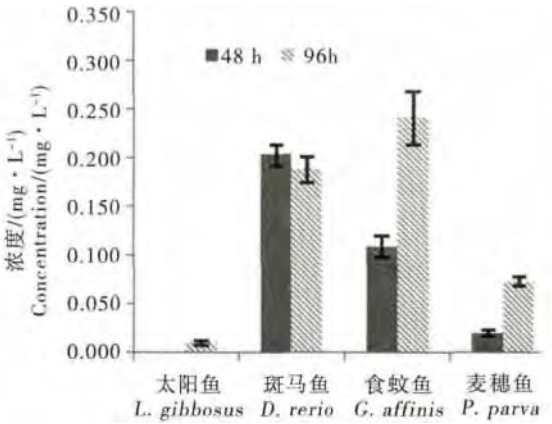


图 4 LC₅₀ 毒死蜱在沉积物中的变化图 (n = 3)

Fig. 4 Chlopyrifos changes of LC₅₀ insediment (n = 3)

2.3 毒死蜱在淡水鱼体内的富集

生物富集是农药在水生生物和水体之间的平衡分配过程,生物富集系数 Bioconcentration factor (BCF) 是指稳态平衡时农药在生物体内浓度和在水环境中浓度的比例常数。按 BCF 大小,将农药生物富集性分为低中高 3 个等级^[12]。从图 5 中 BCF 结果分析看,毒死蜱表现为高富集性或中等富集性。3 种鱼体中富集系数可高达 1 450,毒死蜱对 3 种鱼的富集系数表现为斑马鱼 $\geq$ 罗非鱼 $>$ 鳊鱼。毒死蜱容易在鲫鱼体内富集^[8],本试验结果表明毒死蜱也容易在斑马鱼、罗非鱼、鳊鱼体内富集。

图 6 显示了斑马鱼、罗非鱼和鳊鱼对毒死蜱的生物富集效应。随着富集时间的增长鱼体内农药富集量趋于平衡。从富集趋势分析,斑马鱼和鳊鱼的富集趋势较一致。3 种鱼的富集平衡均为 14 d 左右。

2.4 毒死蜱对淡水鱼 AchE 的影响

毒死蜱 LC_{10} 浓度下酶活数据测定结果见图 7,为 96 h 时毒死蜱处理组和 CK 空白处理组的鱼脑 AchE。可观察到毒死蜱处理组鱼脑 AchE 活力显著低于空白处理组,从而证实毒死蜱作为有机磷类农药对淡水鱼 AchE 有明显的抑制作用。

酶活抑制率是指和对照相比酶活性受影响的程度,AchE 酶活抑制率越高表明神经代谢途径受阻越严重,直接影响鱼类的存活率。已有研究报道毒死蜱暴露后鲤鱼脾脏和头肾抗氧化酶活性显著性降低^[13]。图 8 反映出 96 h 毒死蜱 LC_{10} 浓度暴露下 12 种鱼的鱼脑 AchE 酶活抑制率,不同科的鱼种之间抑制率存在显著差异。96h 酶活抑制率高达 30% ~ 88.6%,表明相对于 96h- LC_{50} 试验,AchE 酶活试验敏感性更显著。比较毒死蜱急性毒性 SSD 与鱼脑

AchE 抑制率表明,SSD 中敏感性排序为太阳鱼 $>$ 稀有鮎鲤 $>$ 虹鳟 $>$ 红箭 $>$ 弹涂鱼 $>$ 罗非鱼 $>$ 麦穗鱼 $>$ 黑鱼 $>$ 鳊鱼 $>$ 十字鱼 $>$ 斑马鱼 $>$ 食蚊鱼,鱼脑 AchE 抑制率为虹鳟 $>$ 弹涂鱼 $>$ 麦穗鱼 $>$ 斑马鱼 $>$ 稀有鮎鲤 $>$ 十字鱼 $>$ 黑鱼 $>$ 罗非鱼 $>$ 红箭 $>$ 太阳鱼 $>$ 鳊鱼 $>$ 食蚊鱼,可见除太阳鱼和斑马鱼外,SSD 敏感性排序与 AchE 酶活抑制率排序基本一致,推测酶活抑制水平在一定程度上反映 96h- LC_{50} 。

3 讨论 (Discussion)

毒死蜱对 12 种淡水鱼种的毒性效应表明不同科的鱼种对农药敏感性存在明显差异。文献报道和本论文稀有鮎鲤 96h- LC_{50} 值分别为 $0.0478 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.005 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,均表现为剧毒;斑马鱼分别为 $0.272 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.291 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,均表现为高毒;鳊科鱼种分别为 $0.219 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.101 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,均表现为高毒;本试验的急性毒性结果与近期报道的稀有鮎鲤、斑马鱼、鳊科鱼种在同一毒性等级上^[11,14,15]。通过绘制农药对鱼类的 SSD 曲线,筛选出 3 个敏感物种:太阳鱼、稀有鮎鲤和虹鳟。毒死蜱对 12 种鱼的毒性高低排序:

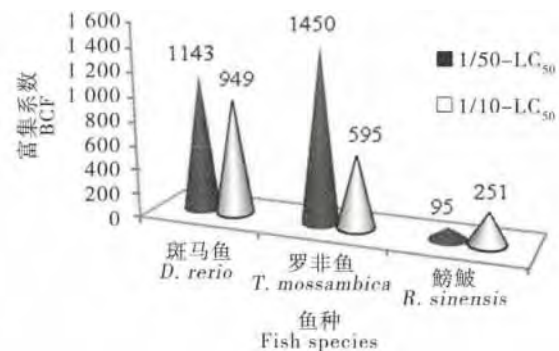


图 5 毒死蜱对 3 种鱼的富集系数

Fig. 5 BCF of 3 kinds of fish to chlorpyrifos

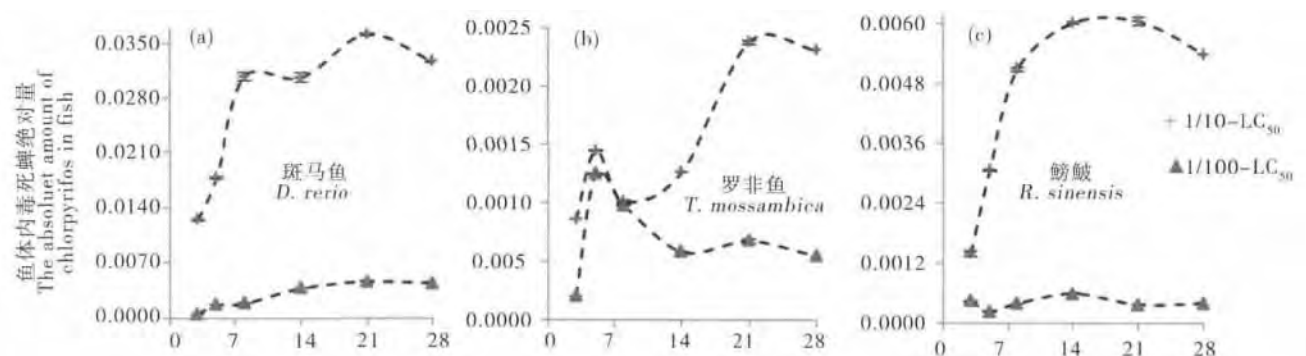


图 6 28d 生物富集试验中 3 种鱼体的毒死蜱绝对量变化和时间关系 ($n=3$)

Fig. 6 The absolute amount of chlorpyrifos in 3 kinds of fish to time in 28d bioaccumulation test ($n=3$)

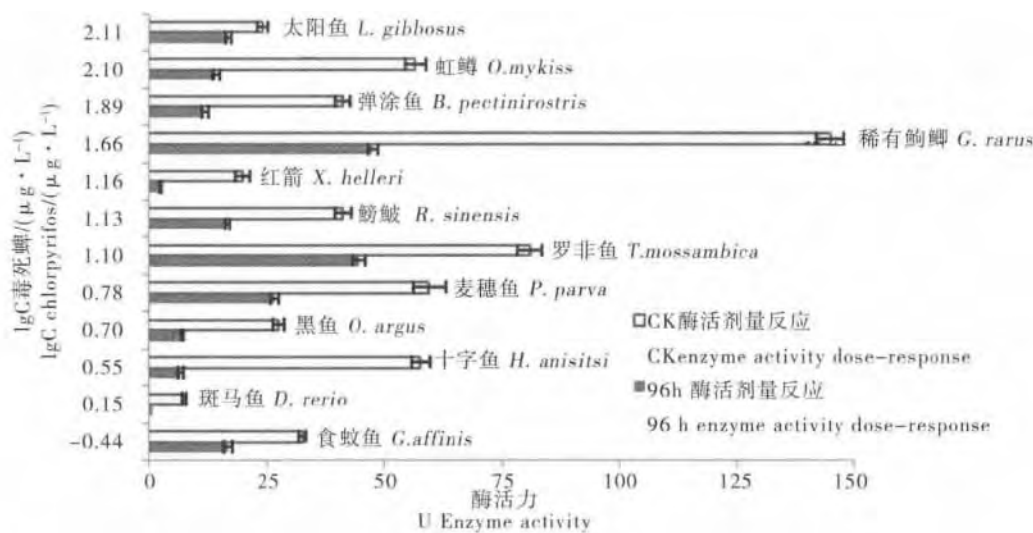


图 7 淡水鱼鱼脑 AchE 酶活与毒死蜱剂量反应关系 (n = 3)

Fig. 7 Dose-response relationship between AchE enzyme activity of fish brain and chlorpyrifos (n = 3)

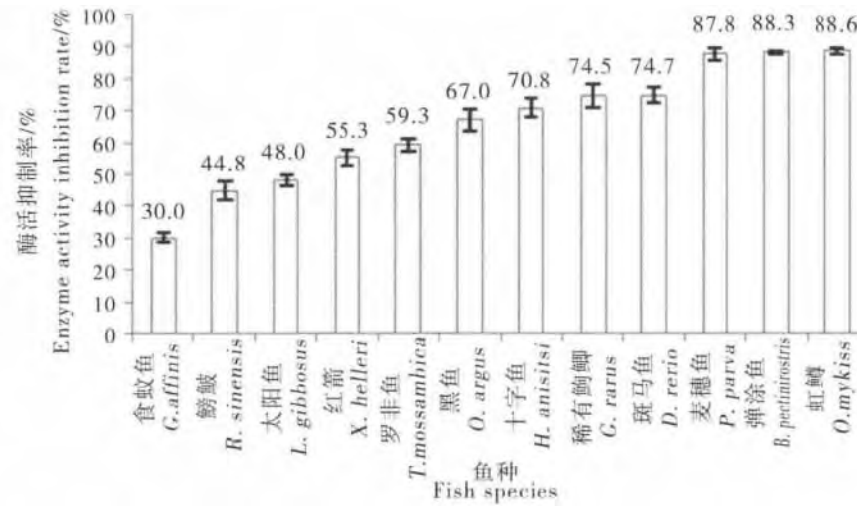


图 8 毒死蜱暴露 96 h 后鱼脑 AchE 酶活抑制率 (n = 3)

Fig. 8 Enzyme activity inhibition rate of fish brain at 96 h to chlorpyrifos (n = 3)

太阳鱼 > 稀有鮡鲫 > 虹鳟 > 红箭 > 弹涂鱼 > 罗非鱼 > 麦穗鱼 > 黑鱼 > 鲮鱼 > 十字鱼 > 斑马鱼 > 食蚊鱼。而实际水环境通常以水-沉积物体系存在, 本研究中水-沉积物体系中毒死蜱对淡水鱼的毒性试验结果表明沉积物的吸附作用使农药对鱼类危害降低。分析 LC_{90} 的暴露浓度下水-沉积物体系对不同鱼的毒性影响不同的可能原因, 高敏感性鱼种的 LC_{90} 相对较低, 在水-沉积物体系中由于沉积物的吸附作用使水中农药浓度迅速降低, 而低敏感性鱼种的 LC_{90} 则较高, 沉积物可能存在吸附饱和现象, 使

得水中农药浓度依然较高, 导致在水-沉积物体系条件下敏感性低的鱼种死亡率反而高于敏感性高的鱼种。实验中水-沉积物体系研究农药对淡水鱼的影响, 与纯水体系的毒性试验模式相比较, 其毒性表征更具实际评价意义。

SSD 作为毒性效应的直观表征, 而 AchE 酶和 BCF 则反映了农药对淡水鱼的毒性机理。试验结果表明毒死蜱 SSD 与鱼脑 AchE 酶活抑制率趋势基本一致, 毒死蜱在鱼体中的高富集性和快速富集效应也反映了其对鱼类表现为高毒, 其中斑马鱼的富集

系数最大。而不同鱼种对毒死蜱的富集系数存在一定差异,初步推断,鱼体内脂肪含量的差异性鱼类种间富集系数差异的主要原因。 LC_{10} 的暴露浓度下不同鱼种的酶活性抑制率存在显著差异,其原因有待研究。毒死蜱对鱼脑 AchE 作用结果显示,虹鳟最敏感,相对于 96h- LC_{50} 毒性试验,酶活试验敏感性更显著,灵敏度更高,建议使用鱼脑 AchE 酶活抑制率作为鱼类对农药的敏感指示。并且已有研究人员通过毒死蜱对食蚊鱼和斑马鱼毒性试验,将 AchE 酶选为短期暴露的敏感指示^[16-17]。另外,毒死蜱 SSD 曲线上敏感性较低的食用鱼种有食蚊鱼、鳊鲂和黑鱼,由于毒死蜱易在鱼体中高倍富集,水产品管理部门应重视这 3 种食用鱼中毒死蜱的监测。

参考文献:

- [1] 潘厚军,吴淑勤,等. 鱼类对有机磷和菊酯类农药的敏感性研究[J]. 淡水渔业, 2000, 30(7): 44-45
- [2] 徐瑞祥,陈亚华,等. 应用物种敏感性分布评估有机磷农药对淡水生物的急性生态风险[J]. 湖泊科学, 2012, 24(6): 811-821
- [3] 胡习邦,王俊能,等. 应用物种敏感性分布评估 DE-HP 对区域水生生态风险[J]. 生态环境学报, 2012, 21(6): 1082-1087
- [4] Feng C L, Wu F C, Dyer S D, et al. Derivation of freshwater quality criteria for zinc using interspecies correlation estimation models to protect aquatic life in China [J]. Chemosphere, 2013, 90(3): 1177-1183
- [5] Sharbidre A A, Metkari V, Patode P. Effect of methyl parathion and chlorpyrifos on certain biomarkers in various tissues of guppy fish, *Poeciliareticulate* [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2011, 101(2): 132-141
- [6] Tao L, Zhang Z W, Chen D C, et al. Effect of atrazine and chlorpyrifos exposure on heat shock protein response in the brain of common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2013, 107(9): 277-283
- [7] Narra M R, Begum G, Rajender K, et al. Toxic impact of two organophosphate insecticides on biochemical parameters of a food fish and assessment of recovery response [J]. Toxicology and Industrial Health, 2012, 28(5): 343-352
- [8] 夏锦瑜,王冬兰,张志勇,等. 毒死蜱和丙溴磷对鲫鱼的毒性效应及其在鱼体中的富集[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(5): 1088-1092
- [9] 刘畅. 血清胆碱酯酶的分离纯化及其在农药残留快速检测中的应用[M]. 华中农业大学出版社, 2005: 16
- [10] 化学农药环境安全评价试验准则[S]. 中华人民共和国国家标准, 2000: 7
- [11] 季静,肖斌,李杨,等. 两种不同剂型毒死蜱对四种环境生物的毒性评价[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(9): 1681-1686
- [12] OECD 鱼类急性毒性试验. 化学品测试方法[M]. 中国环境出版社, 2003, (2): 191-192
- [13] 王旭. 阿特拉津和毒死蜱单一及联合亚慢性暴露对鲤鱼免疫器的毒性研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2011: 13-20
- [14] 杨亚洲,蔡磊明,孟智启,等. 毒死蜱对稀有鮡鲫不同生命阶段的毒性效应[J]. 农药学学报, 2014, 16(1): 78-83
- [15] Verma V K, Saxena A, et al. Investigations on the acute toxicity and behavioural alterations induced by the organophosphate pesticide, chlorpyrifos on *Puntiuschola* (Hamilton-Buchanan) [J]. Indian Journal of Fisheries, 2013, 60(9): 141-145
- [16] Karen D J, Klaine S J, Ross P E, et al. Further considerations of the skeletal system as a biomarker of episodic chlorpyrifos exposure [J]. Aquatic Toxicology, 2001, 52(3-4): 285-296
- [17] Joanne P, Inês D, Marta M, et al. Synergistic effects caused by atrazine and terbuthylazine on chlorpyrifos toxicity to early-life stages of the zebrafish *Danio rerio* [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2013, 20: 4671-4680