

氯化镉、马拉硫磷和乙草胺对赤子爱胜蚓的 复合急性毒性*

乔文鹏 乔玉辉** 赵 晶 孙振钧

(中国农业大学资源与环境学院 北京 100193)

摘 要 以赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*)为试验动物,选取氯化镉、马拉硫磷和乙草胺作为污染物,通过人工土壤法研究了3种污染物在5种比例两种污染物复合条件下对蚯蚓的急性毒性。研究表明,3种污染物在两两复合污染时的作用类型以拮抗为主,仅在镉浓度 $19.46 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和乙草胺 $175.15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (1:9)复合类型是相加作用,说明复合污染生态毒理效应与污染物的化学性质和浓度水平平均相关。从蚯蚓活体体重减少情况看,在复合污染条件下,污染物对蚯蚓生长的影响与单一污染的结果类似,马拉硫磷对赤子爱胜蚓的影响最大,乙草胺次之,而氯化镉的影响最小。

关键词 蚯蚓 氯化镉 马拉硫磷 乙草胺 复合毒性

中图分类号: X171.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2010)03-0562-04

Combined acute toxicity of chloride Cd, malathion and acetochlor on *Eisenia fetida* earthworm

QIAO Wen-Peng, QIAO Yu-Hui, ZHAO Jing, SUN Zhen-Jun

(College of Resources and Environment, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract Based on the Artificial Soil Test, acute toxicities of combined two pollutants among chloride cadmium, malathion and acetochlor with 5 different ratios are tested on *Eisenia fetida* earthworm. The results show that interactions between two pollutants in each group are almost antagonistic. The interaction between $19.46 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of cadmium and $175.15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of acetochlor in the ratio of 1:9 is, however, an additive effect. This indicates that the eco-toxic effect of combined pollutants is related with the chemical characteristic and concentration of the pollutants. In the combined contamination test, the effect of each pollutant on the growth of earthworm is similar to its independent effects. The toxicities of the 3 pollutants respectively rank from serious to light for malathion, acetochlor and cadmium.

Key words Earthworm, Chloride cadmium, Malathion, Acetochlor, Combined toxicity

(Received June 25, 2009; accepted Sept. 10, 2009)

近二三十年来,随着农用化学品在农业生态系统中的大量使用和城市工业固体废弃物的大量排放,给土壤生态系统带来的污染日趋严重。在土壤污染诊断和风险评价方面,化学方法具有局限性,无法对污染物质的毒性效应做出正确评价;目前生态毒理方法正成为这一领域最新研究热点。土壤污染生态毒理诊断集合了土壤中不同食物链生物对化学品的整体毒性效应,提供土壤污染的全部信息^[1-4]。

蚯蚓作为土壤环境的一种指示生物,在土壤中

存在的数量大,范围广,处于陆地生态食物链的底部,对大多数的杀虫剂和重金属都具有富集作用,可用来研究化学物质对土壤环境的污染,并根据这些化学物质对蚯蚓的毒害程度来评价其可能对环境的危害程度^[5-6]。

自然界中的污染物质很少是单独存在的,污染物几乎都是以混合物的形式存在,并产生一定的交互作用,复合污染物能够使受试生物受到不同程度的抑制,但由于不同物质的毒性作用机理不同,复

* 中国农业大学科研启动基金、北京市生态重点学科项目(XK10019440)资助

** 通讯作者: 乔玉辉(1970-),女,博士,副教授,主要研究方向为土壤污染生态。E-mail: qiaoyh@cau.edu.cn

收稿日期: 2009-06-25 接受日期: 2009-09-10

合后有可能产生拮抗、协同等交互作用,且随污染物重量比例的变化,交互作用的类型也很可能随之发生变化,导致其毒性作用机理极为复杂。因此,现有的研究大多是以已有的复合污染判断方法为基础,以试验结果(主要还是表观现象)为依据,进行复合类型的推断^[7-10]。要从机理上判断复合污染的类型,需要大量的试验数据。目前多数研究集中在土壤微生物方面,而对土壤动物方面的研究较少。

针对当前土壤中污染情况极为复杂的现状,本研究选用重金属镉、杀虫剂马拉硫磷和除草剂乙草胺3种土壤中普遍存在的污染物作为研究对象,对蚯蚓进行急性复合毒性试验,以期为复合污染的研究提供更多数据,揭示复合污染对土壤环境的潜在影响,为有关职能部门制定相关的环境安全标准提供参考。

1 材料与方法

本试验采用的供试生物为赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*),由中国农业大学蚯蚓养殖基地提供。赤子爱

胜蚓是国际蚯蚓试验标准蚓种,具有中等敏感性。选择有明显环带、体重300~500 mg的健康蚯蚓作为供试动物,试验前经预培养。

供试污染物包括氯化镉(购自北京化工厂)、90%马拉硫磷原药(河北衡水北方化工厂提供)、90%乙草胺乳油(内蒙古扎兰屯市农药制品有限公司提供)。

本试验采用OECD(1984)标准的人工土壤法,人工土壤的主要成分为70%的石英砂、20%的高岭土以及10%的草炭。由于不同原材料pH不同,最终影响到人工土壤的酸度,易对试验结果产生不同程度的影响,因此人工土壤配好后采用CaCO₃将其pH调节到6.0。

在复合试验前进行了3种污染物的单一急性毒性试验,得到14 d镉离子、马拉硫磷和乙草胺3种污染物对赤子爱胜蚓的半致死浓度(LC₅₀)分别为952.1 mg·kg⁻¹、97.8 mg·kg⁻¹、178.8 mg·kg⁻¹^[11]。在此基础上进行复合污染的浓度设定(表1),每处理4个重复。在第7 d和第14 d进行蚯蚓活体数量的记录,并在第14 d对蚯蚓活体称重。

表1 复合污染物急性毒性试验处理

Tab.1 Concentrations of different pollutants in combined pollution in acute toxicity test mg·kg⁻¹

重量比例 Weight proportion	镉与马拉硫磷复合 Cd and malathion combinaton		镉与乙草胺复合 Cd and acetochlor combination		马拉硫磷与乙草胺复合 Malathion and acetochlor combination	
	Cd and malathion combinaton		Cd and acetochlor combination		Malathion and acetochlor combination	
	Cd	马拉硫磷 Malathion	Cd	乙草胺 Acetochlor	马拉硫磷 Malathion	乙草胺 Acetochlor
1:9	10.74	96.70	19.46	175.15	16.51	148.61
1:3	31.52	94.56	56.09	168.27	37.03	111.10
1:1	88.69	88.69	150.53	150.53	63.22	63.22
3:1	224.28	74.76	343.10	114.37	82.72	27.57
9:1	457.37	50.82	598.18	66.46	92.20	10.24

本文采用过筛试验法判定复合污染的类型^[12],即获得污染物单一污染条件下的LC₅₀后,假设这两种污染物的复合类型是相加作用,根据公式(1)计算出一定比例下,复合污染物的理论半致死浓度,然后将这一浓度投入试验,根据14 d蚯蚓的死亡率来判断复合作用的类型,死亡率<30%即为拮抗,死亡率>80%为协同,死亡率在30%~80%为相加作用。

$$\frac{1}{\text{混合物的预期}LC_{50}\text{值}} = \frac{a}{A\text{的}LC_{50}} + \frac{b}{B\text{的}LC_{50}} + \dots + \frac{n}{N\text{的}LC_{50}} \quad (1)$$

式中, a 、 b 、 \dots 、 n 分别为化学污染物质A、B、 \dots 、N在混合物中所占的比例, $a+b+\dots+n=1$ 。

2 结果与分析

2.1 镉与马拉硫磷对赤子爱胜蚓的复合毒性

镉与马拉硫磷复合污染各浓度比例处理中的蚯

蚓都呈现出相同症状:蚯蚓个体僵硬、蜷曲、收缩,且在第7 d和第14 d两次检验时蚯蚓的僵硬症状相似,死亡蚯蚓尸体多呈现黄色黏稠半液体状,部分蚯蚓尸体呈现念珠状,轻微移动就会断裂,部分蚯蚓还分泌出血水。受毒害的蚯蚓环节间收缩有力,但迁移能力明显降低。与镉、马拉硫磷单一污染条件下症状相比较,复合污染条件下受害蚯蚓与镉单一毒害的症状类似,但未出现马拉硫磷单独作用时在第14 d蚯蚓体僵硬症状基本消失的现象,而是一直保持受害症状。

由表2可知,镉与马拉硫磷复合染毒各处理在试验进行的两周内都有个体死亡现象,且在第14 d个体死亡率均小于30%,复合作用类型以拮抗为主。

2.2 镉与乙草胺对赤子爱胜蚓的复合毒性

镉与乙草胺1:9、1:3和3:1的3个复合染

表 2 镉与马拉硫磷复合污染条件下赤子爱胜蚓的死亡率
Tab. 2 Death rate of earthworm *E. fetida* under combined pollution of Cd and malathion

重量比例 Weight proportion	镉浓度 Concentration of Cd (mg · kg ⁻¹)	马拉硫磷浓度 Concentration of malathion (mg · kg ⁻¹)	7 d 死亡率 Death rate in 7 d (%)	14 d 死亡率 Death rate in 14 d (%)	复合作用类型 Interaction type
1 : 9	10.74	96.70	12.50	20.83	拮抗 Antagonism
1 : 3	31.52	94.60	8.33	16.67	拮抗 Antagonism
1 : 1	88.69	88.69	16.67	16.67	拮抗 Antagonism
3 : 1	224.30	74.76	8.33	29.17	拮抗 Antagonism
9 : 1	457.40	50.82	4.17	16.67	拮抗 Antagonism

表 3 镉与乙草胺复合污染条件下赤子爱胜蚓的死亡率
Tab. 3 Death rate of earthworm *E. fetida* under combined pollution of Cd and acetochlor

重量比例 Weight proportion	镉浓度 Concentration of Cd (mg · kg ⁻¹)	乙草胺浓度 Concentration of acetochlor (mg · kg ⁻¹)	7 d 死亡率 Death rate in 7 d (%)	14 d 死亡率 Death rate in 14 d (%)	复合作用类型 Interaction type
1 : 9	19.46	175.15	4.17	33.33	相加 Addition
1 : 3	56.09	168.27	0.00	8.33	拮抗 Antagonism
1 : 1	150.53	150.53	0.00	4.17	拮抗 Antagonism
3 : 1	343.10	114.37	0.00	8.33	拮抗 Antagonism
9 : 1	598.20	66.46	0.00	0.00	拮抗 Antagonism

毒处理的蚯蚓症状为体腔液外渗, 变细变软, 环节松弛; 镉与乙草胺 1 : 1、9 : 1 两个处理的活体蚯蚓体色正常, 无明显中毒症状。后两个处理和前 3 个处理相比, 死亡率相对较低, 镉与乙草胺 9 : 1 处理到染毒 14 d 结束时未出现蚯蚓死亡。

表 3 表明, 镉和乙草胺复合染毒各处理在 7 d 内的死亡率很低, 只有镉与乙草胺 1 : 9 处理有 4.17% 的死亡率, 其他 4 个复合污染处理都没有死亡现象, 从 7 d 到 14 d 则陆续出现死亡的蚯蚓, 镉与乙草胺 1 : 9 处理蚯蚓 14 d 的死亡率达 33.33%, 镉与乙草胺两种污染物表现出相加作用, 而镉与乙草胺 9 : 1 处理中仍没有蚯蚓死亡。其他 3 个复合污染处理蚯蚓死亡率低于 30%, 因此镉与乙草胺在 1 : 3、1 : 1、3 : 1 和 9 : 1 4 个处理其复合作用类型是拮抗。

2.3 乙草胺与马拉硫磷对赤子爱胜蚓的复合毒性

马拉硫磷和乙草胺复合污染处理蚯蚓死亡个体很少, 在出现死亡的马拉硫磷与乙草胺 1 : 1、3 : 1、9 : 1 处理中大部分活体表现出的症状与马拉硫磷单

一染毒的中毒症状类似, 蚯蚓出现身体僵硬和蜷曲现象。而其他两种马拉硫磷和乙草胺 1 : 9、1 : 3 复合处理中蚯蚓体表沾土明显较少, 说明体表黏液分泌正常, 其健康状况相对良好。

表 4 表明, 乙草胺和马拉硫磷复合污染处理的蚯蚓死亡率均小于 30%, 且马拉硫磷和乙草胺 1 : 9、1 : 3 复合处理在试验进行的 14 d 内并无个体死亡现象出现, 复合作用类型为拮抗。

2.4 复合污染条件对蚯蚓体重的影响

在试验过程中, 除关注蚯蚓个体死亡率外, 还在第 14 d 称量了蚯蚓的活体体重, 分析污染物在不同复合污染条件下对蚯蚓生长的影响。从蚯蚓活体体重减少看, 在镉与马拉硫磷以及马拉硫磷和乙草胺复合污染条件下, 受马拉硫磷的影响较大, 而在镉与乙草胺复合污染条件下受乙草胺的影响较大, 这与单一污染的结果类似, 马拉硫磷对赤子爱胜蚓的半致死浓度最小, 乙草胺其次, 而镉的半致死浓度最大。

表 4 乙草胺与马拉硫磷复合污染条件下赤子爱胜蚓的死亡率
Tab. 4 Death rate of earthworm *E. fetida* under combined pollution of acetochlor and malathion

重量比例 Weight proportion	马拉硫磷浓度 Concentration of malathion (mg · kg ⁻¹)	乙草胺浓度 Concentration of acetochlor (mg · kg ⁻¹)	7 d 死亡率 Death rate in 7 d (%)	14 d 死亡率 Death rate in 14 d (%)	复合作用类型 Interaction type
1 : 9	16.51	148.60	0.00	0.00	拮抗 Antagonism
1 : 3	37.00	111.10	0.00	0.00	拮抗 Antagonism
1 : 1	63.20	63.20	4.17	8.33	拮抗 Antagonism
3 : 1	82.70	27.60	4.17	8.33	拮抗 Antagonism
9 : 1	92.20	10.20	8.33	12.50	拮抗 Antagonism

表 5 不同复合条件下 14 d 后蚯蚓体重减少量
Tab. 5 Weight loss of earthworm *E. fetida* under different combined pollution after 14 days g

重量比例 Weight proportion	镉与马拉硫磷复合 Cd and malathion combination	镉与乙草胺复合 Cd and acetochlor combination	马拉硫磷与乙草胺复合 Malathion and acetochlor combination
1 : 9	0.092±0.015ab	0.145±0.031a	0.110±0.007a
1 : 3	0.071±0.007b	0.108±0.015ab	0.042±0.006b
1 : 1	0.111±0.014ab	0.147±0.043a	0.025±0.002b
3 : 1	0.101±0.011ab	0.101±0.015ab	0.018±0.021b
9 : 1	0.122±0.023a	0.062±0.012b	0.021±0.007b

表中数据采用 Duncan 法进行统计, 不同字母为 0.05 水平差异显著。The data was analyzed with Duncan, different letters mean significant difference at 0.05 level.

表 5 表明, 复合污染条件下的蚯蚓体重减少量与蚯蚓死亡率相关性较差, 死亡率相同的不同处理间, 偶有体重变化差异显著, 可能由于不同污染物比例下, 复合污染物的毒性机理发生了改变, 使蚯蚓体重变化无法很好地反映毒性大小。

3 讨论

本试验研究了 3 种污染物重金属镉、马拉硫磷及乙草胺在两两复合污染条件以 5 种不同比例混合对蚯蚓的毒性, 经过筛试验法检验得出大部分复合类型是拮抗作用, 只有镉和乙草胺在 1 : 9 处理下的复合类型是相加作用。研究表明复合污染生态毒理效应不仅取决于污染物的化学性质, 还与不同污染物的浓度水平有关。梁继东等^[13]的研究表明, 甲胺磷、乙草胺和 Cu 的复合毒性效应十分复杂, 与不同浓度组合及染毒历时有关。左海根等^[14]研究呋喃丹和杀虫双对赤子爱胜蚓的复合急性毒性效应, 发现呋喃丹与杀虫双复合对蚯蚓死亡率变化的影响小于相应剂量下单一农药对蚯蚓死亡率变化的影响。有人研究了涕灭威和十二烷基苯磺酸钠(SDBS)组成的复合污染体系对茎线虫 DNA 的影响, 结果表明, 低浓度的 SDBS 在复合污染体系中的存在, 可以使 DNA 损伤程度低于相同条件下涕灭威单一污染的损伤^[15]。

本试验中出现拮抗现象的主要原因可能是由于镉与乙草胺的部分功能团发生了络合作用, 导致乙草胺和镉的生物利用率降低, 因此降低了复合后的毒性, 但当乙草胺浓度远大于镉时, 镉无法络合所有的乙草胺, 多余的乙草胺对赤子爱胜蚓产生的毒害相对较大, 因此镉与乙草胺 1 : 9 处理的复合类型表现出相加作用; 镉与马拉硫磷发生拮抗也可能是由于两者之间发生了络合作用; 马拉硫磷与乙草胺复合时也出现拮抗现象, 可能是由于在对蚯蚓产生毒害时马拉硫磷与乙草胺出现结合点位的竞争, 导致毒性降低。上述分析只是一些推测, 还需要对其机理进行进一步研究。

参考文献

[1] Lee K E. Some trends and opportunities in earthworm research[J]. Soil Biol Biochem, 1992, 24(12): 1765–1772

[2] Anderson T H. Microbial eco-physiological indicators to asses soil quality[J]. Agric Ecosys Environ, 2003, 98: 285–293

[3] Hartley W, Uffindell L, Plumb A, et al. Assessing biological indicators for remediated anthropogenic urban soils[J]. Science of the Total Environment, 2008, 405: 358–369

[4] Arias M E, Gonzalez-Perez J, Gonzalez-Vila A, et al. Soil health—a new challenge for microbiologists and chemists[J]. Int Microbiol, 2005, 8: 13–21

[5] Lowe C N, Butt K R. Earthworm culture, maintenance and species selection in chronic ecotoxicological studies: A critical review[J]. European Journal of Soil Biology, 2007, 41: 281–288

[6] Lock K, Janssen C R. Cadmium toxicity for terrestrial invertebrates: Taking soil parameters affecting bioavailability into account[J]. Ecotoxicology, 2001, 10(5): 315–322

[7] 龚平, 孙铁珩, 李培军. 重金属对土壤微生物的生态效应[J]. 应用生态学报, 1997, 8(2): 218–224

[8] 藤应, 黄昌勇, 骆永明, 等. 重金属复合污染下红壤微生物活性及其群落结构的变化[J]. 土壤学报, 2005, 12(5): 819–828

[9] 赵祥伟, 骆永明, 藤应, 等. 重金属复合污染农田土壤的微生物群落遗传多样性的研究[J]. 环境科学学报, 2005, 25(2): 186–191

[10] 张惠文, 张倩茹, 周启星, 等. 乙草胺及铜离子复合施用对黑土农田生态系统土著微生物的急性毒性效应[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(2): 129–133

[11] 乔文鹏, 乔玉辉, 孙振钧. 氯化镉、马拉硫磷和乙草胺对蚯蚓的单一急性毒性[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26: 514–518

[12] 孔繁翔. 环境生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 92–93

[13] 梁继东, 周启星. 甲胺磷、乙草胺和铜单一与复合污染对黑土环境安全的胁迫研究[J]. 环境科学学报, 2004, 24(3): 474–481

[14] 左海根, 林玉锁, 龚瑞忠. 农药污染对蚯蚓毒性毒理研究进展[J]. 农村生态环境, 2004, 20(4): 1–5

[15] 张清敏, 陈正雄, 郭立. 涕灭威十二烷基苯磺酸钠复合污染体系对茎线虫的损伤与修复[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22 (1): 97–101