

# 草甘膦对重金属毒性的抑制效应研究 ——以发光菌(*Photobacterium phosphoreum* T3)为例

周垂帆<sup>1,2</sup>, 林静雯<sup>2</sup>, 李莹<sup>2</sup>, 王玉军<sup>1\*</sup>, 周东美<sup>1</sup>

(1.中国科学院南京土壤研究所土壤环境与污染修复重点试验室, 南京 210008; 2.福建农林大学林学院, 福州 350002)

**摘要:**草甘膦分子( $C_3H_8NO_3P$ )中含有较多配位基团如羧基、氨基、磷酸基,对重金属阳离子有很强的络合能力,可能会影响重金属的生物有效性进而影响其毒性。为了解草甘膦(GPS)和铜(Cu)、镉(Cd)交互对发光菌毒性效应,以明亮发光杆菌 T3 小种(*Photobacterium phosphoreum* T3)为例,进行了室内模拟试验研究。结果表明:Cu、Cd 对发光菌有很强的毒性( $EC_{50}$  分别为  $1.28$ 、 $0.89$   $mg \cdot L^{-1}$ );没有控制 pH 的草甘膦能够降低溶液 pH,对发光菌亦有较强的毒性( $EC_{50}$  为  $35.9$   $mg \cdot L^{-1}$ );但控制 pH 值为 5.0 的草甘膦对发光菌无明显毒性,并且能够显著降低 Cu、Cd 对发光菌的抑制,同时随着 GPS/Cu、GPS/Cd 摩尔比值的增大使毒性降低,直至无明显毒性。据此认为,在重金属和农药草甘膦共存的环境当中,草甘膦能够影响重金属的形态,进而影响重金属的生物有效性和毒性。

**关键词:**草甘膦;铜;镉;明亮发光杆菌;复合污染

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)12-2329-06 doi:10.11654/jaes.2014.12.008

## Inhibitory Effect of Glyphosate on Toxicity of Heavy Metals: A Case Study on *Photobacterium phosphoreum* T3

ZHOU Chui-fan<sup>1,2</sup>, LIN Jing-wen<sup>2</sup>, LI Ying<sup>2</sup>, WANG Yu-jun<sup>1\*</sup>, ZHOU Dong-mei<sup>1</sup>

(1.Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2.College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

**Abstract:** Glyphosate (N-[phosphonomethyl]-glycine, GPS) is one of the most widely used herbicides in agricultural and forestry production. It contains functional groups of amine, carboxylate and phosphonate that can form strong coordination bonds with metal ions and thus may affect the bioavailability and toxicity of heavy metals in soils. Therefore, a laboratory experiment was conducted to investigate the interactions between GPS and heavy metals (Cu and Cd) with respect to their acute toxicity to *Photobacterium phosphoreum* T3. Results showed that the toxicity of Cu and Cd to photobacterium was very strong ( $EC_{50}$  was  $1.28$   $mg \cdot L^{-1}$  and  $0.89$   $mg \cdot L^{-1}$  for Cu and Cd, respectively). The GPS obviously decreased pH in the media and possessed much greater toxicity to photobacterium ( $EC_{50}$  was  $35.9$   $mg \cdot L^{-1}$ ) when the medium pH remained unadjusted. However, GPS did not show toxicity when the medium pH maintained at 5.0. The presence of GPS obviously relieved the acute toxicity of Cu and Cd to photobacterium. Increasing molar ratios of GPS/Cu and GPS/Cd significantly decreased the toxicity of Cu and Cd to photobacterium. Copper toxicity disappeared at GPS/Cu molar ratio greater than 1. In conclusion, GPS could modify speciation of heavy metals, and thus their toxicity in GPS and heavy metals co-existing systems.

**Keywords:** glyphosate; copper; cadmium; *Photobacterium phosphoreum*; combined pollution

草甘膦( $C_3H_8NO_3P$ )是全球使用量最大的除草剂之一,可控制世界上危害最大的 78 种杂草中的 76 种,被大量用于人工林、农田、园林、苗圃、铁路、公路

等地各种杂草的防除。在 2010 年草甘膦全球需求量已经超过 100 万 t,虽然草甘膦对农业的高产丰收起着重要作用,但过量使用必然会导致草甘膦在土壤中的积累,并对土壤化学过程产生一定影响<sup>[1]</sup>。按正常使用量  $1$   $kg \cdot hm^{-2}$  计算,表层 13 cm 土壤中草甘膦残余浓度可达  $0.45$   $mg \cdot kg^{-1}$ ,而在高剂量使用条件下,土壤中草甘膦残余浓度可达  $2$   $mg \cdot kg^{-1}$ <sup>[2]</sup>,因此草甘膦在土壤环境中的行为和生态风险更应受到关注。

收稿日期:2014-05-12

基金项目:国家自然科学基金项目(41422105,31400465);环保部公益性行业科研专项(20140941)

作者简介:周垂帆(1986—),男,山东青岛人,博士,讲师,主要从事土壤面源污染研究。E-mail:zhouchuifan@163.com

\* 通信作者:王玉军 E-mail:yjwang@issas.ac.cn

随着经济的快速发展,农药、化肥的广泛使用及大尺度生态环境条件恶化等因素所造成的土壤污染呈机理复杂、形式多样和范围扩大之势,污染物之间复杂的交互作用是重要表现之一,重金属和有机污染物所形成的复合污染逐渐成为普遍的环境污染现象<sup>[3]</sup>。草甘膦与重金属复合污染是农田中常见的复合污染类型,主要和农业经营措施有关,因为在草甘膦使用的过程中通常伴有其他农业措施。如:在果园农药使用过程中,草甘膦常与波尔多液(硫酸铜)一起使用,其中 Cu 被作为杀真菌剂来控制植物的霉病,长期使用含 Cu 的杀菌剂能够导致果园土壤 Cu 浓度增加,有数据表明,果园土 Cu 含量法国为 100~1500 mg·kg<sup>-1</sup>、印度为 29~131 mg·kg<sup>-1</sup>、澳大利亚为 11~320 mg·kg<sup>-1</sup>,都远高于当地土壤背景值<sup>[4]</sup>;在农业耕种过程中长期使用磷肥会导致土壤 Cd 污染,研究表明每年每公顷使用过磷酸钙肥料 376 kg 时,土壤中 Cd 将每年增加 7.8 g<sup>[4]</sup>。因此,草甘膦在农田、果园等环境当中使用必然会出现草甘膦与 Cu、Cd 等重金属的复合污染。虽然过去人们对重金属或农药草甘膦这些污染物的单一毒性效应以及作用机理已做了广泛而深入的研究,但是目前对重金属和草甘膦复合共存的环境风险和相互作用机理还不清楚。

近年来,由于发光菌毒性检测法具有灵敏度高、相关性好、反应速度快、自动化程度高等优点,已广泛应用于金属化合物和有机污染物污染环境的联合毒性作用评价中。如皇甫鑫等<sup>[5]</sup>研究了金属化合物对发光菌的毒性效应及不同发光菌的敏感度差异;宋晓青等<sup>[1]</sup>利用发光菌,探索了不同类型除草剂和 4 种重金属混合物毒性变化规律;邓铁柱等<sup>[6]</sup>研究表明乙草胺与重金属对发光菌的联合毒性主要以拮抗为主。因此,本文选择农田中典型污染物农药草甘膦和重金属 Cu、Cd 为研究对象,采用发光菌毒性测试法测定草甘膦与重金属单一及复合污染的生物毒性,分析草甘膦与重金属复合污染的生物毒性机制,为复合污染的生态毒性评价提供生物指示工具,为污染物的生物毒性研究提供科学依据和研究方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

试剂:草甘膦(结构式如图 1,原药纯度≥95%),Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O, CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O。

主要仪器:智能生物毒性测试仪(DXY-3 型),中国科学院南京土壤研究所研制。

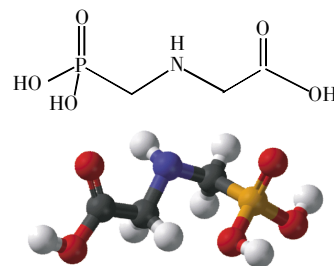


图1 草甘膦结构式

Figure 1 Molecular structure of glyphosate

试验生物:明亮发光杆菌 T3 小种(*Photobacterium phosphoreum* T3)冻干粉,南京土壤研究所提供。

### 1.2 发光菌染毒

试验方法:空白对照使用 2 mL NaCl(3%)溶液,测试样品用 NaCl(3%)做母液配制,各吸取 2 mL 于比色管中,每个浓度做 5 个平行样;按照发光菌菌种使用说明对发光菌菌种进行复苏,使其恢复发光,然后迅速吸取 50 μL 发光菌液,放入比色管中摇匀,15 min 后用生物毒性测试仪测定对照的发光强度  $I_0$ ,测试样品的发光强度  $I$ ,记录并按照下式计算抑制率  $X$ :

$$X = (I_0 - I) / I_0 \times 100\%$$

以抑制率作图,拟合回归方程<sup>[7]</sup>。

### 1.3 供试毒物及毒性浓度设计

草甘膦毒性试验:草甘膦浓度为 0、2.5、5、10、15、20、25、30、40、50、60、80、100 mg·L<sup>-1</sup>,共分 2 组,其中一组控制初始 pH=5.0±0.1(1.0 mol·L<sup>-1</sup> 的 NaOH 调节,且试验过程中 pH 未出现显著变化),另一组不做控制并测定其 pH。

草甘膦影响下铜、镉的毒性试验:

(1)Cu [Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O] 总量达到 0、0.1、0.25、0.5、0.75、1.0、1.5、2、3、4、5、6、8 mg·L<sup>-1</sup>,计算出 EC<sub>25</sub>、EC<sub>50</sub>、EC<sub>75</sub> 和 EC<sub>100</sub>(pH>5.0 未做调节)。Cu 设置 4 个浓度(EC<sub>25</sub>、EC<sub>50</sub>、EC<sub>75</sub> 和 EC<sub>100</sub>),分别和不同浓度比例的草甘膦复合,使 GPS/Cu 摩尔比值为 0、0.25、0.5、1、5(用 1.0 mol·L<sup>-1</sup> 的 NaOH 调节初始 pH = 5.0±0.1,且试验过程中 pH 未出现显著变化),计算抑制率。

(2)溶液中 Cd(CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O)的总量为:0、0.125、0.25、0.375、0.5、1、1.5、2、3、4、5、10、15、20、25 mg·L<sup>-1</sup>。使用剂量效应曲线拟合并计算出 EC<sub>20</sub>、EC<sub>50</sub>、EC<sub>80</sub>(pH>5.0 未做调节)。Cd 设置 3 个浓度(EC<sub>20</sub>、EC<sub>50</sub>、EC<sub>80</sub>)分别和不同浓度的草甘膦混合,使 GPS/Cd 摩尔比值分别为 0、2.5、5、10、20(用 1.0 mol·L<sup>-1</sup> 的 NaOH

调节初始 pH=5.0±0.1,且试验过程中 pH 未出现显著变化),计算抑制率。

#### 1.4 数据处理及统计

试验数据以平均值±标准差表示,用 SPSS17.0 软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA),S-N-K 检验法进行多重比较,以  $P<0.05$  表示处理间数据差异显著,用 Origin 8.6 绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 草甘膦对发光菌的单一毒性

草甘膦对发光菌的剂量-效应数据散点及模拟剂量-效应曲线见图 2。草甘膦对发光菌的抑制率与其浓度之间存在着明显正相关,即随着浓度的增大,抑制率上升,并呈 S 形;溶液 pH 随着草甘膦浓度的增大而降低,抑制率与溶液 pH 显著负相关( $r=-0.889$ ,  $P<0.01$ ),通过 DOS 曲线拟合得出其  $EC_{50}$  为  $35.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。调节 pH 后草甘膦对发光菌基本不存在抑制效应,即没有明显毒性。由此可见,草甘膦对发光菌产生毒性的原因是其浓度增大所引起的溶液 pH 的降低。

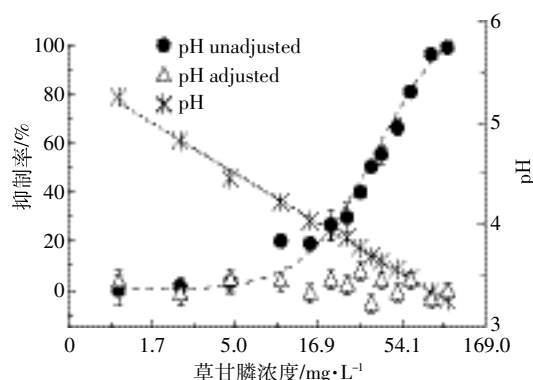
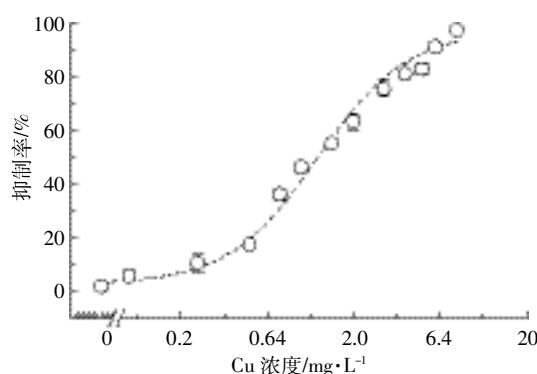


图 2 GPS 对发光菌的毒性效应

Figure 2 Toxicity of glyphosate to *Photobacterium phosphoreum* T3



### 2.2 铜、镉对发光菌的单一毒性

Cu 和 Cd 对发光菌的剂量-效应数据散点及模拟剂量-效应曲线见图 3。Cu 和 Cd 对发光菌的抑制率与其浓度之间存在着明显正相关,即随着其浓度的增大,抑制率上升,并呈经典的 S 形。通过 DOS 曲线拟合得到 Cu 的  $EC_{25}$ 、 $EC_{50}$ 、 $EC_{75}$ 、 $EC_{100}$  分别为 0.63、1.28、2.59、10.12  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;Cd 的  $EC_{20}$ 、 $EC_{50}$ 、 $EC_{80}$  分别为 0.44、0.89、1.31  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

### 2.3 草甘膦和铜、镉交互对发光菌的毒性

Cu 与草甘膦复合对发光菌的抑制率如图 4 所示。与 Cu 单独存在相比,发光菌抑制率随着 GPS/Cu 摩尔比值的增大而降低,直至无显著抑制出现,即 GPS 能显著降低 Cu 对发光菌的毒性,特别是  $EC_{25}$  处理,当 GPS/Cu 摩尔比值为 1 时抑制率接近 0 (即对发光菌已无明显的抑制毒性)。

Cd 与草甘膦复合后对发光菌的抑制率如图 5 所示。与 Cd 单独存在相比发光菌抑制率随着 GPS/Cd 摩尔比值的增大而降低,特别是  $EC_{20}$  处理,当 GPS/Cu 摩尔比值为 2.5 时对发光菌抑制率已大幅度降低,说明草甘膦同样能够减轻重金属 Cd 对发光菌的毒性。

## 3 讨论

### 3.1 草甘膦对发光菌的毒性效应

草甘膦即 N-(膦酸甲基)甘氨酸,是一种有机酸,是农用除草剂的有效成分。通常来说其靶标生物为植物,其致毒机理主要是:草甘膦进入植物体内,抑制植物体内的 EPSP 酶,使植物不能合成其生存所必需的氨基酸,最终导致植物死亡,而非光合生物体内并不存在这种酶<sup>[6]</sup>,故对非靶标生物的毒性很低。因此,美国环保署(EPA)将草甘膦列为第三类有毒物质(低毒

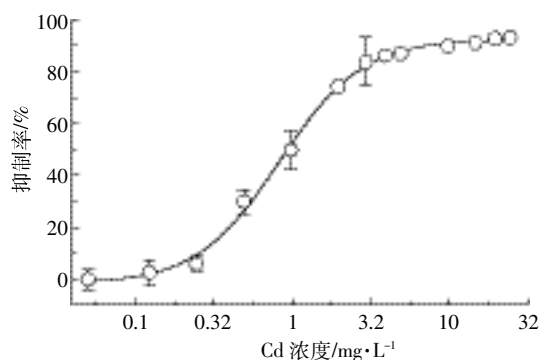
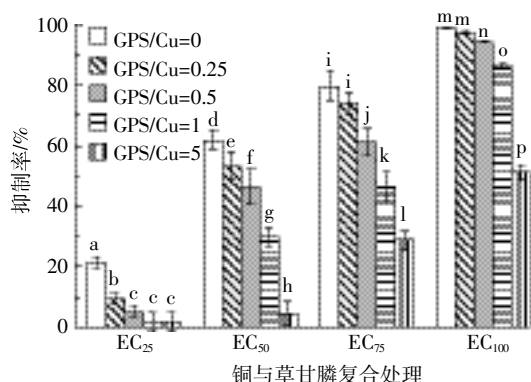


图 3 Cu、Cd 对发光菌的毒性效应

Figure 3 Toxicity of Cu or Cd to *Photobacterium phosphoreum* T3



Those not sharing the same letters are significantly different at  $P < 0.05$ . The same as below

图4 Cu 和 GPS 复合对发光菌的毒性效应

Figure 4 Toxicity of glyphosate and Cu interactions to *Photobacterium phosphoreum* T3

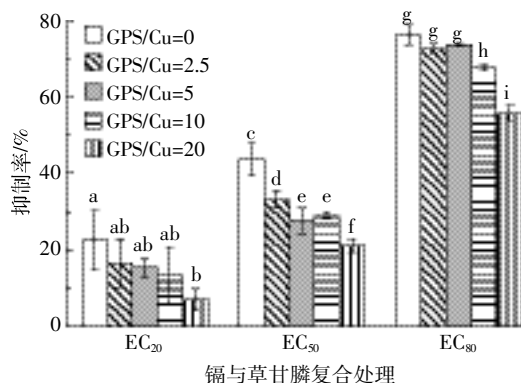


图5 Cd 和 GPS 复合对发光菌的毒性效应

Figure 5 Toxicity of glyphosate and Cd interactions to *Photobacterium phosphoreum* T3

性)。我们的研究也表明,在控制 pH 的情况下草甘膦对发光菌发光强度没有明显影响,说明排除 pH 影响的草甘膦对发光菌是几乎无毒的。类似的是,其他大多数研究也证明草甘膦(原药)对非靶标生物毒性很低甚至无毒,如 Uchida 等<sup>[7]</sup>发现草甘膦对青鳉鱼(*Oryzias latipes*)毒性很小,暴露在草甘膦中其肝脏未出现显著的基因表达变化;Atkinson 等<sup>[8]</sup>研究了草甘膦对老鼠的三代毒性和对兔的发育毒性,结果表明草甘膦对其生殖和发育均无显著影响;我们之前通过草甘膦对蚯蚓(*E.fetia*)急性毒性和亚急性毒性效应的研究,也发现草甘膦处理下蚯蚓同样没有表现出显著的毒害症状<sup>[9]</sup>。

但也有研究表明草甘膦会对非靶标生物有一定的毒性,如于景丽等<sup>[10]</sup>的研究结果表明草甘膦制剂对发光菌产生毒性作用,其光抑制率随测试时间的延长和浓度的增大而增强,原因可能和暴露的 pH、表面活

性剂的存在或菌种有关。Bernal 等<sup>[11]</sup>的研究表明,草甘膦对蝌蚪无明显毒害,而草甘膦制剂(草甘膦和表面活性剂配合物)对蝌蚪有显著毒害,表面活性剂聚乙氧基牛脂和除草剂草甘膦处理的蝌蚪均出现尾部生长畸形,变态成功率减少,青蛙雌雄同体的比率增加。Howe 等<sup>[12]</sup>用草甘膦和 5 种草甘膦制品以及聚乙氧基牛脂(表面活性剂)对 4 种北美青蛙进行急性毒性对比研究,对草甘膦组成成分及制剂的毒性大小进行评比并认为:草甘膦异丙胺盐<草甘膦酸<草甘膦制剂<表面活性剂。即不同草甘膦制剂因其剂型和组成成分不同,导致其毒性大小不同。

我们的研究结果表明,草甘膦具有较强的酸性,引起了试验介质 pH 显著降低,暴露在未调节 pH 介质的发光菌受到显著抑制,其  $EC_{50}$  为  $35.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,与 Tsui 等<sup>[13]</sup>的结果类似,可能主要是由于溶液过酸对发光菌产生了毒害。在进行酸性毒物的毒性测试中,由于自然水体和土壤通常比试验介质的 pH 缓冲能力要强得多,在试验中要考虑调整 pH 或添加 pH 缓冲剂,以消除 pH 降低所诱导产生的毒性。

### 3.2 铜、镉对发光菌毒性效应

对发光菌的毒性测试表明,重金属 Cu、Cd 有很强的毒性,和前人的研究也基本一致<sup>[14]</sup>,即发光菌的正常代谢受到重金属胁迫时,其发光强度降低,抑制程度与所暴露的重金属浓度呈正相关。这是因为发光菌发光所依靠的荧光酶是其呼吸代谢的重要物质,与发光菌代谢密切相关。重金属等有害物质的存在可能抑制了发光菌的细胞内核酸、蛋白质的合成等,进而抑制了细菌代谢活动<sup>[14]</sup>,这均是影响细菌发光的重要因素。此外,由于发光菌呼吸链位于细胞膜中,任何影响细胞膜的因素也会累及细胞呼吸从而影响发光,比如重金属能改变细胞膜的渗透性、抑制细胞膜上氧的运输<sup>[15]</sup>。本研究还表明生物非必需元素 Cd 的毒性要比生物必需元素 Cu 更大( $EC_{50}$  分别为  $0.89$ 、 $1.28 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),原因可能是与 Cu 相比较,Cd 与发光菌的细胞有更强的亲和性,进而更强地抑制了发光菌的发光强度<sup>[10]</sup>。这一结果和皇甫鑫等<sup>[15]</sup>的研究是一致的。

### 3.3 草甘膦存在时铜、镉对发光菌毒性效应

重金属的生物毒性不仅与其总量有关,更在很大程度上由其形态决定,不同的形态会产生不同的毒性效应,其形态和毒性大小受 pH、温度、硬度、碱度、共存阳离子有机、无机络合物的影响<sup>[10,16]</sup>。草甘膦与重金属的复合污染是农田中常见的复合污染类型<sup>[16]</sup>,作为一种有机配体草甘膦有可能对重金属的毒性产

生影响。试验结果表明草甘膦对重金属的毒性产生显著影响,即草甘膦明显地降低重金属 Cu、Cd 对发光菌的毒性,表现出拮抗作用。这是因为重金属产生毒害主要是自由态金属离子所引起<sup>[16]</sup>,而草甘膦中含有 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{PO}_4$ 等配位基团,这些基团对重金属阳离子均有很强的络合能力<sup>[17]</sup>,草甘膦与 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 发生络合反应,Cu 和 Cd 分别以 Cu-GPS 和 Cd-GPS 复合体的形式存在(这种络合态的金属往往毒性很小,甚至是无毒害的)<sup>[18]</sup>,减少了自由态的 $\text{Cu}^{2+}$ 和 $\text{Cd}^{2+}$ 比例。这也验证了 Morel<sup>[19]</sup>的结论,即如果只有自由态离子或者有效态离子产生毒性,那么多数金属离子会被草甘膦螯合,形成螯合态金属或无效态金属,从而降低重金属的毒性或有效性。另外,草甘膦与金属离子的结合能力受金属离子的种类和价态影响,草甘膦与三价金属结合力最强,二价次之,一价最弱。二价离子中最强是 $\text{Cu}^{2+}$ ,本试验结果表明草甘膦能够减轻 Cu 对发光菌的抑制,甚至 Cu 和草甘膦复合后对发光菌无毒害,可能是草甘膦完全将 $\text{Cu}^{2+}$ 络合所致<sup>[9,13]</sup>。但由于草甘膦与 Cu 络合的自由能要比与 Cd 络合的自由能小得多,即草甘膦与 Cd 结合的热力学稳定性要比与 Cu 的弱得多<sup>[13]</sup>,造成草甘膦对 Cd 的毒性影响要比 Cu 毒性的影响更弱。

正是草甘膦这种强大的络合功能,使其具备了独特的化学性质。一方面草甘膦能够络合生物组织或土壤溶液中的离子态金属,从而减少生物对金属离子的吸收,如 Eker 等<sup>[20]</sup>的研究表明,由于络合作用草甘膦能够减少向日葵(*Helianthus annuus* L.)对矿质元素 Fe 和 Mn 的吸收,我们先前的研究同样证明草甘膦能够减少蚯蚓对 Cu 的吸收,从而降低 Cu 对蚯蚓的急性毒性<sup>[9]</sup>和亚急性毒性<sup>[21]</sup>;另一方面金属离子能够与草甘膦络合从而降低草甘膦对植物的毒性,如王玉军等<sup>[22]</sup>的研究表明 Cd 能够降低高浓度草甘膦对小麦的生物毒性,类似的是 Cu 的存在也一定程度上减轻草甘膦对小麦发芽及芽长的抑制作用<sup>[23]</sup>。

其他学者也对有机配体对重金属毒性做了较多研究,同样表明重金属对生物的毒性和有效性不仅仅取决于金属的总量,而且和自由态的金属离子密切相关,他们强调有机配体的络合对金属的生物有效性、毒性、转移、分布、归宿有重要影响。如 Halvorson 等<sup>[24]</sup>首先报道了土壤中螯合物能够降低金属毒性,同时降低生物的吸收;特别是,络合剂 EDTA 是一种很好的土壤调和剂能够降低 Pb<sup>[25]</sup>和 Mn<sup>[26]</sup>对秋葵的毒性;类似的是,EDTA 或者 DTPA 等络合剂能够显著降低

$\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 对蚤类(*Daphnia magna*)的毒性<sup>[27]</sup>;Arnold 等<sup>[28]</sup>的研究表明添加络合剂 EDTA 导致自由态的 $\text{Cu}^{2+}$ 和非有机态的 Cu 显著降低,蚯蚓的死亡率和体内 Cu 富集量随着 EDTA 的增加而降低。值得注意的是,草甘膦与 EDTA 影响重金属毒性的机制类似,都是通过 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 等官能团与重金属络合,但是我们注意到由于这些官能团与有配位能力的重金属产生络合作用,降低了土壤对重金属的吸附,使得 EDTA 能够活化土壤中的重金属<sup>[29]</sup>,从而加速重金属从土壤中释放、迁移。草甘膦是否存在这种环境风险也应该引起关注。

## 4 结论

重金属 Cu、Cd 对发光菌有很强的毒性,其中 Cd 对发光菌的毒性比 Cu 更大,在控制酸性的情况下,草甘膦对发光菌基本上无毒性,但在酸性条件下草甘膦对发光菌有较强的毒性( $\text{EC}_{50}$  为  $35.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),其毒性主要是由于草甘膦引起受试介质 pH 降低而产生。在重金属浓度相同的情况下,由于草甘膦能够络合自由态的金属离子,使其能够降低重金属对发光菌的毒性(特别是由于草甘膦对 Cu 的络合能力更强,两者络合后甚至对发光菌无毒性)。草甘膦的这种作用类似螯合剂 EDTA 和 NTA,因此在草甘膦与重金属复合共存的情况下,草甘膦能够影响重金属的生物有效性和毒性。

## 参考文献:

- [1] 宋晓青,刘树深,刘海玲,等.部分除草剂与重金属混合物对发光菌的毒性[J].生态毒理学报,2008,3(3):237-243.  
SONG Xiao-qing, LIU Shu-shen, LIU Hai-ling, et al. Mixture toxicity of herbicides and heavy metal compounds to photobacteria (*Vibrio qinghaiensis* sp. —Q67) [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2008, 3 (3): 237-243.
- [2] Morillo E, Undabeytia T, Maqueda C, et al. Glyphosate adsorption on soils of different characteristics: Influence of copper addition[J]. *Chemosphere*, 2000, 40(1): 103-107.
- [3] He B, Yun Z J, Shi J B, et al. Research progress of heavy metal pollution in China: Sources, analytical methods, status, and toxicity[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2013, 58(2): 134-140.
- [4] Wang Q Y, Zhou D M, Cang L. Microbial and enzyme properties of apple orchard soil as affected by long-term application of copper fungicide[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(7): 1504-1509.
- [5] 皇甫鑫,廖 翀,杨 坪,等.金属化合物对发光菌的毒性效应及不同发光菌的敏感度差异研究[J].环境科学学报,2010,30(9):1787-1792.  
HUANGFU Xin, LIAO Chong, YANG Ping, et al. Toxicity of metal com-

- pounds to luminescent bacteria and sensitivity differences of different luminescent bacteria[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, 30(9): 1787-1792.
- [6] 邓铁柱, 苏丽敏, 袁 星, 等. 乙草胺与 Cu, Zn 对发光菌和斑马鱼胚胎的联合毒性效应[J]. 环境化学, 2008, 26(6): 741-744.  
DENG Tie-zhu, SU Li-min, YUAN Xing, et al. Joint toxicity of acetochlor and Cu, Zn to photobacterium phosphoreum and zebrafish embryos[J]. *Environmental Chemistry*, 2008, 26(6): 741-744.
- [7] Uchida M, Takumi S, Tachikawa K, et al. Toxicity evaluation of glyphosate agrochemical components using Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and DNA microarray gene expression analysis[J]. *The Journal of Toxicological Sciences*, 2012, 37(2): 245.
- [8] Atkinson D. Toxicological properties of glyphosate: A summary[M]. Toronto, Canada: Butterworth and Co., The Herbicide Glyphosate. 1985: 210-216.
- [9] Zhou C F, Wang Y J, Yu Y C, et al. Does glyphosate impact on Cu uptake by, and toxicity to, the earthworm *Eisenia fetida*?[J]. *Ecotoxicology*, 2012, 21(8): 2297-2305.
- [10] 于景丽, 刘 芳, 张国辉, 等. 发光菌法研究镉离子、草甘膦和啮虫脒的联合毒性[J]. 安全与环境学报, 2010, 10(2): 1-4.  
YU Jing-li, LIU Fang, ZHANG Guo-hui, et al. Study on the joint toxicity of cadmium ion glyphosate and acetamiprid by Luminescent bacteria[J]. *Journal of Safety and Environment*, 2010, 10(2): 1-4.
- [11] Bernal M H, Solomon K R, Carrasquilla G. Toxicity of formulated glyphosate (Glyphos) and cosmo-flux to larval and juvenile colombian frogs 2. field and laboratory microcosm acute toxicity[J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 2009, 72(15-16): 966-973.
- [12] Howe C M, Berrill M, Pauli B D, et al. Toxicity of glyphosate based pesticides to four North American frog species[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2004, 23(8): 1928-1938.
- [13] Tsui M T K, Chu L M. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations; comparison between different organisms and the effects of environmental factors[J]. *Chemosphere*, 2003, 52(7): 1189-1197.
- [14] Belkin S, Smulski D R, Dadon S, et al. A panel of stress-responsive luminescent bacteria for the detection of selected classes of toxicants[J]. *Water Research*, 1997, 31(12): 3009-3016.
- [15] Chu S, He Y, Xu X. Determination of acute toxicity of polychlorinated biphenyls to *Photobacterium phosphoreum*[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1997, 58(2): 263-267.
- [16] 周东美, 王慎强, 陈怀满. 土壤中有机污染物-重金属复合污染的交互作用[J]. 土壤与环境, 2000, 9(2): 143-145.  
ZHOU Dong-mei, WANG Shen-qiang, CHEN Huai-man. Interaction of organic pollutants and heavy metal in soil[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2000, 9(2): 143-145.
- [17] Abate L, De Stefano C, Foti C, et al. Binding of glyphosate by open-chain polyammonium cations[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1999, 18(10): 2131-2137.
- [18] Tsui M, Chu L M. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: Comparison between different organisms and the effects of environmental factors[J]. *Chemosphere*, 2003, 52(7): 1189-1197.
- [19] Morel F M M. Principles of aquatic chemistry[M]. New York NY: John Wiley and Sons, 1983: 446.
- [20] Eker S, Ozturk L, Yazici A, et al. Foliar-applied glyphosate substantially reduced uptake and transport of iron and manganese in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(26): 10019-10025.
- [21] Zhou C F, Wang Y J, Li C C, et al. Subacute toxicity of copper and glyphosate and their interaction to earthworm (*Eisenia fetida*)[J]. *Environmental Pollution*, 2013, 180c: 71-77.
- [22] 王玉军, 周东美, 孙瑞娟, 等. 镉与除草剂草甘膦的交互作用对小麦的毒性[J]. 生态环境, 2004, 13(2): 158-160.  
WANG Yu-jun, ZHOU Dong-mei, CHEN Huai-man, et al. Toxicity of the interaction of glyphosate and cadmium to wheat[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2004, 13(2): 158-160.
- [23] 王米道, 程凤侠, 司友斌. 铜与草甘膦复合污染对小麦种子发芽与根伸长的抑制作用[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(4): 591-596.  
WANG Mi-dao, CHENG Feng-xia, SI You-bin. The inhibition of the combined pollution of copper and glyphosate to the seed germination and root elongation of wheat[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2009, 4(4): 591-596.
- [24] Halvorson A D, Lindsay W L. The critical  $Zn^{2+}$  concentration for corn and the nonabsorption of chelated zinc[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1977, 41(3): 531-534.
- [25] Denduluri S. Reduction of lead accumulation by ethylenediamine tetraacetic acid and nitrilo triacetic acid in okra (*Abelmoschus esculentus* L.) grown in sewage-irrigated soil[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1993, 51(1): 40-45.
- [26] Denduluri S. Reduction of manganese accumulation by ethylenediamine tetraacetic acid and nitrilo triacetic acid in okra (*Abelmoschus esculentus* L.) grown in sewage-irrigated soil[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1994, 52(3): 438-443.
- [27] Sorvari J, Sillanpää M. Influence of metal complex formation on heavy metal and free EDTA and DTPA acute toxicity determined by *Daphnia magna*[J]. *Chemosphere*, 1996, 33(6): 1119-1127.
- [28] Arnold R E, Hodson M E, Comber S. Does speciation impact on Cu uptake by, and toxicity to, the earthworm *Eisenia fetida*? [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2007, 43(Suppl1): 230-232.
- [29] Shahid M, Austruy A, Echevarria G, et al. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metals: A review[J]. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 2014, 23(4): 389-416.