

# 毒死蜱对淡水原生动物群落的急性毒性

刘国光, 徐海娟, 王莉霞, 郑立庆

(河南师范大学化学与环境科学学院 河南省高等学校环境科学与工程重点学科开放实验室, 河南 新乡 453002)

**摘要:**以 PFU 法采集淡水中原生动物群落为试验对象对毒死蜱急性毒性进行研究。结果表明, 毒死蜱对原生动物群落的 48 h - LC<sub>50</sub> 为 8.54 mg · L<sup>-1</sup>, 原生动物群落结构参数和功能参数随毒死蜱的加入量的增加而变化, 植鞭毛虫种类数减少, 优势种均为 B 类原生动物。以单种生物为试验对象对农药毒性的评价缺少环境真实性, 而用微型生物群落则更接近自然环境, 更有现实意义。

**关键词:**毒死蜱; 原生动物群落; 毒性

**中图分类号:**X503.225 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2004)04-0814-04

## Acute Toxicity of Chlorpyrifos to Freshwater Protozoa Community

LIU Guo-guang, XU Hai-juan, WANG Li-xia, ZHENG Li-qing

(College of Chemistry and Environmental Science, Henan Normal University, The Key Laboratory of Environmental Science and Technology of High Education of Henan Province, Xinxiang 453002, China)

**Abstract:** The toxicity of chemicals with bio-community has much advantage over that with single organism. PFU (Polyurethane Foam Unit) can be used to collect microorganisms from natural water, and the predominant component in the PFU is protozoa, which includes the autotrophic and heterotrophic species. There is predator-prey relationship between these protozoa, so it has the structure and function of community. The acute toxicity of chlorpyrifos to protozoa community collected by PFU from freshwater was studied in this paper. The results showed that the 48 h - LC<sub>5</sub>, LC<sub>20</sub> and LC<sub>50</sub> of chlorpyrifos to the protozoa community was 0.51 mg · L<sup>-1</sup>, 2.19 mg · L<sup>-1</sup>, and 8.54 mg · L<sup>-1</sup> respectively, which implied that organisms in community level have high toxicity resistance to chemicals. The structure parameter and function parameter of protozoa community changed with the changes of the concentration of chlorpyrifos, the high concentration of chlorpyrifos corresponding with the simple structure of protozoa community. When the concentration of chlorpyrifos rose, the species of phytomastigophorea reduced and all the dominant species belonged to Bactivores-detritivores group. The evaluation of toxicity of pesticide from microbiota community showed more environmental factuality and more practicable purport than that from single species.

**Keywords:** protozoa community; toxicity; chlorpyrifos

PFU(Polyurethane Foam Unit)法是一种用聚氨酯泡沫塑料块采集和研究水体微型生物的技术, 由 Cairns 于 1969 年首次提出<sup>[1]</sup>。PFU 采集到的微型生物包括细菌、真菌、藻类和原生动物以及小型的后生动物, 构成了一个微型生态系统。原生动物是单细胞动物, 不仅在食物链中起着承上启下的作用——摄食细菌和藻类同时为大型浮游生物提供饵料, 而且在促进营养物质的循环、碎屑分解以及细菌和藻类生长等方面起着重要作用<sup>[2]</sup>。原生动物通过细胞膜直接与环

境接触, 对环境变化比较敏感, 环境条件的微小变化会导致原生动物群落的组成和结构迅速发生变化; 另一方面, 与种水平、种群水平相比原生动物群落对毒物胁迫的反应更具环境真实性<sup>[3, 4]</sup>。因此, 本研究以 PFU 微型生态系统中的原生动物群落为靶生物研究化学品的生物毒性。

毒死蜱(1965年由美国陶氏化学公司[Dow Chemical Co.]开发成功), 化学结构式为 O-O-二乙基 O-3,5,6-三氯-2-吡啶基磷酸酯, 是一种杂环类有机磷农药, 它不仅可以抑制乙酰胆碱脂酶活性, 还可以阻断植物的光合作用, 既是杀虫剂又是除草剂, 在农业上和家庭卫生上多有使用。据报道, 欧盟每年用 50 t 毒死蜱, 美国每年用 5 000 t 毒死蜱<sup>[5]</sup>, 而我

收稿日期: 2003-12-31

基金项目: 河南省创新人才工程资助项目(教育[2002]513号)

作者简介: 刘国光(1963—), 男, 教授, 博士, 博士生导师, 从事环境化学研究。E-mail: guoanguangliu@263.net

国从 1993 年开始研制和开发毒死蜱, 当前已有不少登记原药生产的企业和正在形成生产规模的企业。由于近年来人们的环保意识大大增强, 对绿色食品的需求日益增长, 国际市场也对我国出口农产品的农药残留量提出了更高的要求。我国将在 2004 年对甲胺磷、久效磷、甲基对硫磷、对硫磷、磷胺等 5 种高毒农药使用量进行削减, 增加毒死蜱等中等毒性农药的生产。据市场统计 2003 年毒死蜱需求量 814 t, 比 2002 年增加 314.91 t, 增加幅度 38.7%。在毒死蜱得到日益广泛应用的同时, 关于毒死蜱对单一物种水生生物的毒性多有研究<sup>[6-9]</sup>, 而对原生动物群落的毒性试验尚无报道。本文就毒死蜱对原生动物群落的急性毒性进行了研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验仪器

LRH-250-G II 微电脑控制光照培养箱 (广东省医疗器械厂);

Olympus BX51 型光学显微镜 (日本奥林巴斯光学工业株式会社);

TG238B 分析天平 (上海精密科学仪器有限公司);

85-1 型磁力搅拌器 (上海司乐仪器厂)。

### 1.2 试验试剂

毒死蜱 (40% 乳油, m/m, 上海惠光化学有限公司) 用重蒸水将毒死蜱乳油稀释 200 倍配成  $2\ 000\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的母液。

### 1.3 采集原生动物群落

将一束在蒸馏水中浸泡 12~24 h 后的 PFU (聚氨酯泡沫塑料块) 绑于一石块上, 并掷进水中 (新乡市郊区一鱼塘), 在近水面处曝露到一定时间, 取出放进塑料袋中, 带回实验室, 用力将 PFU 中富集液挤入烧杯中待用。试验所用 PFU 大小为  $5.5\ \text{cm} \times 6\ \text{cm} \times 7.5\ \text{cm}$ , 孔径为  $100 \sim 150\ \mu\text{m}$  (只有微型生物可以进入)。

### 1.4 试验条件

试验水体 pH 值为 8.23, 将微型生物在恒温  $25\ \text{C} \pm 1\ \text{C}$  条件下, 光暗周期为 12 h: 12 h, 光强大于  $3\ 000\ \text{lx}$  的模拟自然生境条件下培养。

### 1.5 试验步骤和方法

#### 1.5.1 原生动物群集曲线的测定

取出置于水中不同时间 (天数) 的 PFU 挤出液进行镜检, 在显微镜下观察 PFU 所收集到的原生动物

种类, 将统计到的种类数和时间做一曲线, 根据该曲线找出原生动物种类达到平衡 (最丰富) 时所需的最短时间。

#### 1.5.2 急性毒性试验

根据预试验中所得的最小全致死和最大无死亡效应浓度范围, 向装有 PFU 挤出液的培养瓶中分别加入适量的毒死蜱母液配置成 0、0.8、2、6、16、28、40  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的试验溶液, 每个浓度梯度设 2 个平行样, 放入光照培养箱中在模拟自然环境下培养 48 h 后镜检。统计显微镜下看到的原生动物种数, 采用系统软件 Origin7.0, 将不同浓度下存活原生动物种数倒数和毒物浓度进行线性拟合, 求出毒死蜱对微型生物群落的 48 h-LC<sub>50</sub>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 群集曲线

试验证明用 PFU 采集原生动物群落过程中, 原生动物的群集过程符合 MacArthur-Wilson 岛屿地理平衡模型<sup>[10]</sup>, 可以表示为  $S_t = S_{eq}(1 - e^{-Gt})$ , ( $S_t$  为  $t$  时的种数,  $S_{eq}$  为估计的平衡种数,  $G$  为常数), 群集速度随着种数的上升而下降。在预试验中不同时间里, 群集到 PFU 上种类数不同, 将时间和原生动物种数作一曲线, 如图 1 所示。由试验观察到鞭毛虫最先群集到 PFU 上, 然后是肉足虫, 最后是纤毛虫, PFU 在水中停留的时间越长, 群集的纤毛虫越多。由曲线可以观察出原生动物在 PFU 上的群集随时间的变化而变化, 在 14 d 时种类最为丰富, 所以试验中取 14 d PFU 挤出液为受试对象。

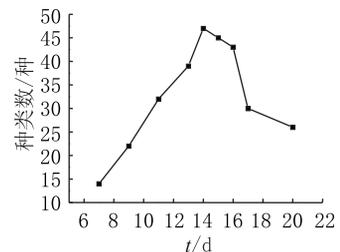


图 1 原生动物群落的群集曲线

Figure 1 The afflux curve of protozoa community

### 2.2 毒性效应

试验得到毒死蜱对原生动物群落的毒性效应曲线, 如图 2 所示。毒死蜱浓度与原生动物种数的倒数之间基本上呈一线性关系, 随着毒死蜱浓度的增大, 原生动物群落结构参数 (种类数、优势种类) 和功能参数 (功能类群) 也随之发生变化。通过观察群落中原生动物种类数的变化, 来评价水中化学品的毒性, 不仅

快速简便,而且与单种生物毒性试验相比,试验结果更具有环境真实性<sup>[11]</sup>。采用最小二乘法对图2的直线进行拟合,得到一个线性方程: $Y = 0.0248 + 0.00295X$ ,  $r = 0.995$ ,  $P < 0.0001$ ;由方程可计算出毒死蜥的 $LC_5$ 、 $LC_{20}$ 、 $LC_{50}$ 分别为 $0.51$ 、 $2.19$ 、 $8.54 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。而Howard<sup>[8]</sup>等试验得出毒死蜥对蚤(*Ceriodaphnia dubia*)的急性毒性 $48 \text{ h} - LC_{50}$ 值为 $0.058 \sim 0.079 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ;Jeffery<sup>[9]</sup>等试验得出毒死蜥对淡水翻车鱼(*bluegill sunfish*)的 $96 \text{ h} - LC_{50}$ 值为 $1.7 \sim 4.2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。与本试验所得数据进行比较,可以看出毒死蜥对原生动物群落显示较小的毒性。

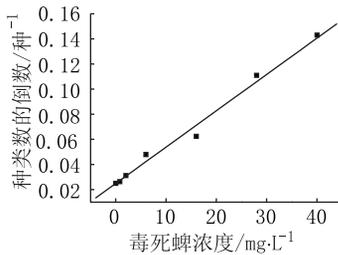


图2 毒死蜥对原生动物群落的毒性效应图(48h)

Figure 2 The diagram showing toxic effect of chlorpyrifos on Protozoa (48 h)

蔡俊鹏<sup>[3]</sup>等通过对DBS(十二烷基磺酸钠)对美洲洲四膜虫单种和种群水平的急性毒性进行比较得出,生物种类以种群形式出现,可增强对外界不利条件的抵抗能力,该结果与Allee氏规律<sup>[12]</sup>相符合。本试验采用微型生物群落作为受试对象,群落级毒性试验较单种受试生物的毒性试验法更能准确地反映生态系统受到的污染物胁迫以及由此产生的生态毒理效应,更具环境现实意义<sup>[13]</sup>。

毒死蜥在水环境中的降解主要是通过化学降解(水解、光解)和生物降解,因其在环境中的半衰期较短<sup>[14]</sup>,而成为高毒难降解农药的替代品,在世界范围内得到广泛的应用。毒死蜥的水解不但受水体pH值、盐度、腐殖酸等因素的影响,水中少量金属离子如铜离子也可以加速毒死蜥的水解速度<sup>[15]</sup>。有关其代谢产物以及进入水体金属离子和毒死蜥对水生生物的联合毒性有待于做进一步的研究。

## 2.3 对结构参数和功能参数的影响

### 2.3.1 敏感种和耐受种

由试验可以观察到存活原生动物种数和毒死蜥的浓度成线性关系,随着毒物浓度的增大,原生动物种类减少,群落结构发生变化。由毒死蜥的急性毒性试验得出,小型变胞藻(*Astasia parvula*)、凹扁前口虫(*Frontonia depressa*)、差异瘦尾虫(*Uroleptus dispar*)

为敏感种,在 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下就消失,而易变裸藻(*Euglena matabilis*)、溪马氏虫(*Mayorella riparia*)、长尾滴虫(*Cercomonas longicauda*)等成为优势种,数量增多。在试验过程中,随着进入体系的毒物浓度的增加,整个受污群落生物种类数减少而耐受种的个体数量增多,群落结构变得简单化。从试验结果可以看出,不同种类的生物对同一种化学品的敏感性不同,有的生物在毒物浓度较低的情况下就会死亡,而有些耐受种类在毒物浓度很高的情况下仍然存活,并且数量有所增加。由此可见,如采用单一物种为受试生物进行化学品的毒性试验,选用不同种类的生物作为靶生物就会得出不同的毒性试验结果,有时甚至会得出相互矛盾的结果来<sup>[16,17]</sup>,这就是要发展群落级毒性试验的原因。

### 2.3.2 群落结构的变化

在对照溶液中共看到44种原生动物,分别隶属3大类,鞭毛虫(包括植物性鞭毛虫和动物性鞭毛虫)的优势度为31.8%,纤毛虫的优势度为45.5%,肉足虫的优势度为22.7%。加入毒死蜥之后,随着浓度的增大,群落结构发生重大变化,浓度越大,种类减少得越多,结构变得越简单,这与Odum<sup>[18]</sup>的假设“受到外界压迫的群落会减小群落的复杂性”相一致。自养者(植物性鞭毛虫)占原生动物群落总种类数的百分比在评价水质中是最敏感的参数。植物性鞭毛虫所占百分比越高,水质越好<sup>[2]</sup>,本试验中对照溶液中植鞭毛虫占20.5%,在 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 毒死蜥溶液中,植鞭毛虫所占比例就明显下降为15.9%,在高浓度处理组,溶液变的十分浑浊。在种类组成上,虽然鞭毛虫、纤毛虫、肉足虫的种类随着毒物浓度的增大而下降,但是其减少的程度各不相同,纤毛虫所受损伤最大,半数致死浓度下就有79.2%的种类消亡。纤毛虫在微型生物群落结构食物链中,是各个营养能级能量流动和物质循环的重要环节,纤毛虫的活动可以加速水中有机磷物质循环,有助于藻类生长;纤毛虫还可以通过对细菌的捕食作用,提高磷在生态系统中的周转率。因此,农药对水环境中原生动物群落的影响不容忽视。

### 2.3.3 功能类群的变化

随着毒物浓度的增大,不仅原生动物种类减少,群落结构也发生明显的变化,从而其功能类群也发生变化。根据Pratt等人<sup>[19]</sup>的观点,把原生动物分为6个功能类群:食菌-碎屑者(Bactivoresdetritivores, B)、光合作用自养者(Photosynthetic autotrophs, P)、无选择性杂食者(Nonselective omnivores, N)、食藻者

(Algivores, A)、食肉者(Predators Raptors, R)、腐生者(Saprotrophs, S)。从功能类群上来分<sup>[1]</sup>,在受试群落中占优势的种群是 B 组,约占 54.5%,其次为光合作用的自养性种类 P 组约占 25.0%,R 组和 A 组分别占 9.1%、6.9%,N 组为 4.5%。随毒物浓度的增大,R 组、A 组、N 组原生动物在半数致死浓度以下浓度就迅速消失,P 组则相对减少了 27.3%。耐受种则几乎均为 B 组,特别是溪马氏虫(Mayorella riparia)、长尾滴虫(Cercomonas longicauda)在最大毒物浓度下仍健康存活,个体数量增多,这是因为加入有机物导致细菌的大量滋生,从而为食菌-碎屑者提供充分的食物来源。

### 3 结论

毒死蜱对淡水原生动物群落的毒性表现为中等毒性,原生动物群落随毒死蜱浓度的增加而变得简单化,植鞭毛虫数量明显减少,水质渐差。同时在试验浓度范围内,功能类群也发生显著变化,N 类、A 类和 R 类的物种迅速消失,P 类物种在毒死蜱浓度较大时也逐渐消失,而食菌和碎屑的鞭毛虫类和肉足虫类具有较高的耐受性,随着毒死蜱浓度的增加,其在群落中的优势度更加明显。原生动物对不同毒物的敏感种和耐受种不同。群落级毒性试验为这一生物群落中多种生物一起对毒物的综合反映,所以 PFU 法对水生生态系统有较高的模拟度和较大的环境真实性。

### 参考文献:

- [1] Cairns J Jr, Dahlberg M L, Dickson K L, et al. The relationship of freshwater protozoan communities to the MacArthur - Wilson equilibrium model[J]. *Amer Nut*, 1969, 103: 439 - 454.
- [2] 沈蕴芬,章宗涉,龚循矩,等. 微型生物监测新技术[M]. 北京:中国建筑工业出版社,1990. 38 - 48.
- [3] 蔡俊鹏,沈蕴芬,顾曼如. 十二烷基磺酸钠(DBS)对原生动物的毒性效应[J]. *水生生物学报*, 1989, 13(3): 218 - 233.
- [4] 沈蕴芬. 用 PFU 微型生物群落毒性试验研究污染物的生态毒理效应. 21 世纪可持续发展之环境保护(下卷),2001. 33 - 41.
- [5] David S, Stuart H, Kevin R. Analytical chemistry of chlorpyrifos and

- diuron in aquatic ecosystems[J]. *Analytica Chimica Acta*, 1998, 360: 1 - 16.
- [6] Odenkirchen E W, Eisler R. Chlorpyrifos hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. US Fish Wildl. Serv. Biol. Rep. 1988, 85, 1. 13, 34.
- [7] Cebrian C, Andreu - Moliner E S, Fernandez - Casalderrey A, et al. Acute toxicity and oxygen consumption in the gills of *Procambarus Clarkii* in relation to chlorpyrifos expose[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1992, 49: 145 - 149.
- [8] Howard C B, Jeffrey L M, Michael J M, et al. Joint acute toxicity of diazinon and chlorpyrifos to *Ceriodaphnia dubia*[J]. *Environ Toxicol Chem*, 1997, 16(11): 2304 - 2308.
- [9] Jeffrey M G, Ronald C B, Kenneth D R. Fate of chlorpyrifos in outdoor pond microcosm and effects on growth and survival of bluegill sunfish [J]. *Environ Toxicol Chem*, 1997, 16(11): 2353 - 2362.
- [10] MacArthur R H, Wilson E O. The theory of island biogeography[M]. Princeton: Princeton University Press, 1967.
- [11] 刁红丽,刘国光,沈蕴芬,等. 快速 PFU 微型生物群落毒性实验法对铜、铅、砷联合毒性的研究[J]. *环境化学*, 2003, 22(1): 80 - 84.
- [12] American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation[S]. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 15th ed. Washington D C, 1980. 530 - 532, 641 - 643.
- [13] Cairns J Jr, McCormick P V. The use of community and ecosystem - level end points in environmental hazard assessment; a scientific and regulatory evaluation[J]. *Envi Auditor*, 1991, 2: 239 - 248.
- [14] Racke K D. Environmental fate of chlorpyrifos [J]. *Rev Environ Contam Toxicol*, 1993, 131: 1 - 150.
- [15] Liu B, McConnell L L, Torrents A. Hydrolysis of chlorpyrifos in natural waters of the Chesapeake Bay[J]. *Chemosphere*, 2001, 44: 1315 - 1323.
- [16] Modoni P, Estebe G, Gorbi G. Acute toxicity of cadmium, copper, mercury and zinc to ciliates from activated sludge plants[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1992, 49: 900 - 905.
- [17] Nicolau A, Manual M, Nelson L. Physiological responses of *Tetrahymena pyriformis* to copper, zinc, cycloheximide and triton x - 100[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1999, 30: 209 - 216.
- [18] Odum E P. The effects of stress on the trajectory of ecological succession[J]. *Stress Effects on Natural Ecosystems*, 1981, 43 - 47.
- [19] Pratt J R, Carins J J. Functions groups in the protozoa: roles in differing ecosystems [J]. *Protozool*, 1985, 82(3): 415 - 423.