

农药灭多威和辛硫磷对罗非鱼的联合毒性研究

孟顺龙^{1,2}, 瞿建宏¹, 宋超¹, 范立民¹, 裘丽萍¹, 陈家长^{1,2*}, 徐跑^{1,2*}

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业部长江下游渔业资源环境科学观测实验站, 中国水产科学研究院内陆渔业生态环境和资源重点开放实验室, 江苏 无锡 214081; 2. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081)

摘要: 采用更新式静态急性试验法, 研究了灭多威和辛硫磷对罗非鱼的单一及联合毒性。结果显示, 灭多威和辛硫磷对罗非鱼的 24、48、96 h-LC₅₀ 分别为 1.25、0.75、0.43 mg·L⁻¹ 和 13.30、6.98、4.58 mg·L⁻¹, 安全浓度分别为 0.043 mg·L⁻¹ 和 0.458 mg·L⁻¹。按照农药毒性分级标准, 灭多威对罗非鱼是极高毒农药, 辛硫磷对罗非鱼是高毒农药。联合毒性试验结果显示: 灭多威和辛硫磷在 24、48、96 h 的相加指数分别为 0.24、0.26、0.06, 相加指数均大于零; SOD 活性研究显示, 灭多威、辛硫磷以及灭多威+辛硫磷对 SOD 活性有显著抑制效应, 且抑制作用随染毒浓度的增加而增强, 同时, 灭多威和辛硫磷联合染毒对罗非鱼肝脏 SOD 活性的抑制效应较相同条件下单一灭多威或辛硫磷染毒时强; 表明灭多威和辛硫磷对罗非鱼的联合毒性表现为协同作用, 它们的共存会对鱼类产生更强的毒性作用。在环境评价中, 决不能简单地将各单一污染物毒性相加来判断其综合毒性。

关键词: 灭多威; 辛硫磷; 罗非鱼; 联合毒性; 超氧化物歧化酶

中图分类号: X592 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2014)02-0257-07 doi:10.11654/jaes.2014.02.008

Joint Toxicity of Pesticides Methomyl and Phoxim to Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

MENG Shun-long^{1,2}, QU Jian-hong¹, SONG Chao¹, FAN Li-min¹, QIU Li-ping¹, CHEN Jia-zhang^{1,2*}, XU Pao^{1,2*}

(1. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences; Scientific Observing and Experimental Station of Fishery Resources and Environment in the Lower Reaches of the Changjiang River, Ministry of Agriculture; Key Open Laboratory of Ecological Environment and Resources of Inland Fisheries, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China; 2. Wuxi Fishery College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China)

Abstract: Methomyl and phoxim, widely used to control pest insects both in China and in the world, enter water bodies directly or indirectly, causing toxicity to fishes in aquatic ecosystems. An experiment was carried out to examine the single and joint toxicities of methomyl and phoxim to tilapia (*Oreochromis niloticus*). The 24 h, 48 h, and 96 h-LC₅₀ of methomyl and phoxim to tilapia were 1.25, 0.75 mg·L⁻¹, and 0.43 mg·L⁻¹ and 13.30, 6.98 mg·L⁻¹, and 4.58 mg·L⁻¹ respectively. Their safe concentrations to tilapia were 0.043 mg·L⁻¹ for methomyl and 0.458 mg·L⁻¹ for phoxim, implying high toxicity of methomyl and phoxim to tilapia. Additive indexes of both pesticides were 0.24, 0.26 and 0.06 at 24 h, 48 h and 96 h respectively. The activity of hepatic SOD was inhibited by methomyl and phoxim alone and in combination, with inhibitory effects being increased with pollutant concentrations. The joint effects of methomyl and phoxim were greater than their respective single. It is concluded that co-existence of methomyl and phoxim in environment has greater toxicity to aquatic lives.

Keywords: methomyl; phoxim; tilapia; joint toxicity; SOD

灭多威和辛硫磷是我国目前广泛使用的两种杀虫剂, 其中辛硫磷在渔业生产中也有使用^[1]。在农业生

产中, 两者经常混合使用以增加药效。有研究表明, 在农药的施用过程中, 仅有 1% 左右作用于靶生物, 其余的或残留于土壤, 或通过地表径流、淋溶、干湿沉降等方式进入水体, 从而对土壤生物和水生生物产生不利影响^[2-3]。调查显示, 浙江省 16 个市级水源地水体中均检出氨基甲酸酯类农药, 其中灭多威被广泛检出, 某处的灭多威浓度甚至高达 0.172 μg·L⁻¹, 超过了欧盟对氨基甲酸酯类农药的限量标准 0.1 μg·L⁻¹^[4]。由于灭多威和辛硫磷用量大、残留期长、环境水体中检出

收稿日期: 2013-08-15

基金项目: 中国水产科学研究院级基本科研业务费项目(2013A0303); 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-49)

作者简介: 孟顺龙(1982—), 男, 安徽颍上人, 博士生, 助理研究员, 研究方向为渔业环境保护、水体富营养化治理等。

E-mail: mengsl@ffrc.cn

* 通信作者: 陈家长 E-mail: chenjjz@ffrc.cn;

徐跑 E-mail: xup@ffrc.cn

率高而引起业内人士的广泛关注。

机体会因环境中的污染胁迫而产生过量自由基^[5]。自由基又称游离基,具有未配对的电子、原子、原子团、分子或离子,它们会攻击细胞膜,引起细胞膜发生脂质过氧化而生成脂质过氧化物(LPO),最终导致整个细胞功能失常,基因突变,蛋白质交联,造成细胞死亡。生物体在活性氧自由基反应引起的脂质过氧化过程中,并非处于被动受攻击状态,因为机体存在一套完备的抗氧化系统,它们能够通过酶促和非酶促反应,降低或消除活性氧自由基对机体的损伤,在保护细胞免受毒性化学物质的攻击中起着重要作用^[6]。水体中农药污染物诱导鱼类产生的氧化损伤可以通过机体的抗氧化酶活性来反映^[7],其中超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)是超氧阴离子自由基($O_2\cdot^-$)最有效的清除剂,可以通过催化歧化反应($O_2\cdot^- + O_2\cdot^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$)来清除体内过量的 $O_2\cdot^-$,保护细胞免受活性氧自由基的氧化损伤^[8]。因此, SOD 活性的高低可以间接地反映鱼体内活性氧的水平和细胞受氧化损伤的程度^[9]。

有关灭多威和辛硫磷对鱼类的联合毒性研究,目前尚未见报道。本试验以灭多威和辛硫磷为供试毒物,从半致死浓度和超氧化物歧化酶(SOD)等方面研究其对罗非鱼的单一及联合毒性效应,确定其对罗非鱼的半致死浓度及安全浓度,为进一步的毒性试验研究提供必要的基础资料,同时也为该类污染物的管理与控制、相关水质标准的制订及渔业污染事故的评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验生物

以罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)为本试验的供试生物。罗非鱼隶属于鲈形目、鲈形亚目、鲷鱼科、罗非鱼属,1976年FAO在日本召开的《水产增殖会议》上向全世界推荐养殖罗非鱼,其具有生长快、适应性广、繁殖力强等特点,在世界大多数国家都容易取得。本试验所用罗非鱼取自中国水产科学研究院淡水渔业研究中心宜兴试验基地,平均体长(6.3 ± 0.6)cm,平均体重(3.86 ± 0.43)g($n=30$)。将从试验基地取回的鱼在实验室驯养2周后,选择活动性强的健康鱼进行试验。驯养期间每日定时投饵1次,但在急性试验前1d以及试验期间不予投饵。驯养期间的最后1周没有出现死鱼现象。

1.2 试验用水

曝气1周的去氯自来水,水温(20 ± 1)℃, DO 6.5~7.0 mg·L⁻¹, pH 值 7.0~7.5, 总硬度 7.78~8.15 (德国度)。试验用水符合渔业水质标准(GB 11607—1989)。

1.3 试验药物

质量分数大于97%的灭多威原药(上海焦点生物技术有限公司)和体积分数为40%的辛硫磷乳剂(天津市华宇农药有限公司)。试验中所示浓度均为药物的有效成分含量。

1.4 试验方法

采用更新式静态急性试验法进行单一毒性和联合毒性研究。

1.4.1 单一毒性

在正式试验之前做预试验,通过观察24、48 h罗非鱼反应,找出正式试验的合适浓度范围。根据预试验结果和半致死浓度的配制要求,选择适当的试验浓度范围分别研究两种农药对罗非鱼的单一毒性。均按0.125浓度对数间距设置染毒浓度梯度,并各设空白组。灭多威对罗非鱼的染毒浓度分别为0、0.32、0.42、0.56、0.75、1.00、1.33、1.78 mg·L⁻¹;辛硫磷对罗非鱼的染毒浓度分别为0、3.16、4.22、5.62、7.50、10.00、13.34、17.78 mg·L⁻¹。每个浓度梯度放罗非鱼10尾。前8 h连续观察,之后分别在24、48、96 h进行观察记录。每个浓度梯度设置3个平行。

1.4.2 联合毒性

联合毒性效应按 Marking 的相加指数法进行评价^[10]。在分别完成灭多威和辛硫磷对罗非鱼单一毒性的基础上,以96 h-LC₅₀作为各自的毒性单位,按毒性单位1:1的配比方式开展农药灭多威和辛硫磷对罗非鱼的联合毒性试验。联合毒性试验中灭多威的染毒浓度分别为0.16、0.21、0.28、0.37、0.50、0.67、0.89 mg·L⁻¹,相应的辛硫磷浓度分别为1.70、2.24、2.98、3.94、5.33、7.08、9.48 mg·L⁻¹。按下列公式求出混合毒物生物活性和相加指数:

$$S = \frac{A_m}{A_i} + \frac{B_m}{B_i} \quad (1)$$

$$AI = \frac{1}{S} - 1 (S < 1); AI = 1 - S (S \geq 1) \quad (2)$$

式中: S 为混合毒物生物活性; A、B 为供试毒物; A_i 和 B_i 为单一毒物的 LC₅₀, mg·L⁻¹; A_m 和 B_m 为混合毒物的 LC₅₀, mg·L⁻¹; AI 为相加指数,若 AI=0 为相加作用, AI>0 为协同作用, AI<0 为拮抗作用。

1.4.3 SOD 活性

在单一毒性和联合毒性试验的 96 h,对仍有罗非鱼存活的浓度组采集罗非鱼肝脏样品(每个浓度采集 3 尾,对于罗非鱼存活量不足 3 尾的浓度组,则采集剩余的所有罗非鱼肝脏样品)。

采用 Marklund 等^[11]的方法测定肝脏 SOD 活性。SOD 活性单位定义为在每毫升反应液中每分钟抑制邻苯三酚自氧化速率达 50%时的酶量。采用 Bradford^[12]的方法测定蛋白含量。

1.5 数据处理及统计分析

采用直线回归法计算药物对罗非鱼的半致死浓度 LC_{50} 和 LC_{50} 的 95%置信限^[13],并根据半致死浓度推算安全浓度^[13]。用 t 检验法对回归方程的相关系数进行显著性检验,各暴露浓度下的 SOD 活性数据均转化为占对照组的百分比的形式进行统计分析;采用单因素方差分析对罗非鱼肝脏 SOD 活性数据进行显著性检验,并用 Tukey 法进行多重比较。显著性水平取 $\alpha=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 灭多威和辛硫磷对罗非鱼的半致死浓度

2.1.1 灭多威和辛硫磷对罗非鱼的单一毒性

灭多威和辛硫磷分别对罗非鱼的单一毒性试验研究表明,在两个染毒系列中,各浓度组罗非鱼死亡率均分别从低浓度到高浓度逐渐增加,死亡率的变化具有很强的规律性(图 1a、图 1b)。用直线回归法计算所得的回归方程、相关系数、 LC_{50} 及其 95%置信限列于表 1。灭多威和辛硫磷在 24、48、96 h 的相关系数分别为 0.992、0.990、0.996 和 0.997、0.990、0.995,采用 t 检验法对各处理时间的相关系数进行显著性检验,结果均达到显著性水平。灭多威和辛硫磷对罗非鱼的 24、48 h 和 96 h 的 LC_{50} 分别为 1.25、0.75、0.43 $mg \cdot L^{-1}$ 和 13.30、6.98、4.58 $mg \cdot L^{-1}$,安全浓度分别为 0.043、0.458 $mg \cdot L^{-1}$ 。按照农药毒性分级标准^[14],灭多威为极高毒农药,辛硫磷为高毒农药,很容易导致鱼类急性中毒死亡。

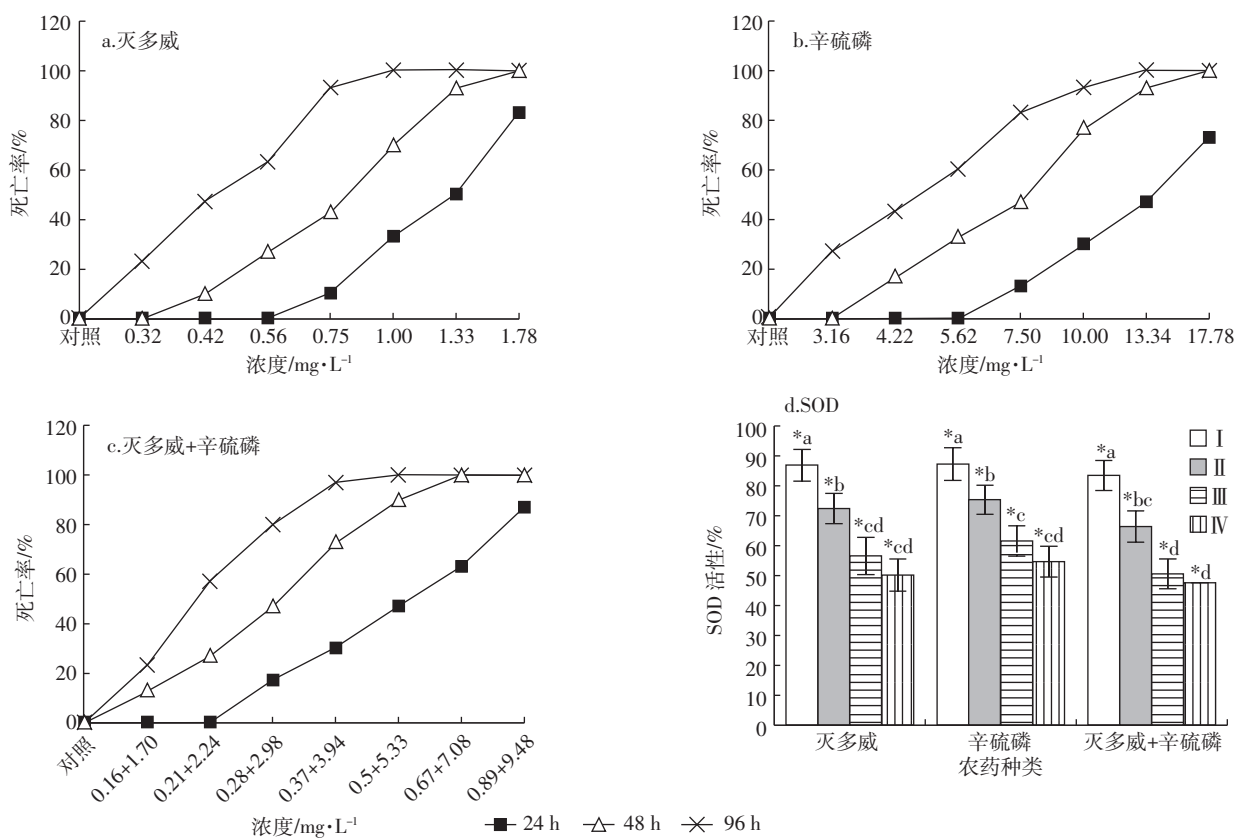


图 1d 中:① I、II、III、IV 在灭多威组中分别代表 0.32、0.42、0.56、0.75 $mg \cdot L^{-1}$,在辛硫磷组中分别代表 3.16、4.22、5.62、7.50 $mg \cdot L^{-1}$;

在灭多威+辛硫磷组中分别代表(0.16+1.70)、(0.21+2.24)、(0.28+2.98)、(0.37+3.94) $mg \cdot L^{-1}$;

②图中标有不同字母的表示各处理间差异显著,*表示和对照组相比差异显著, $P<0.05$

图 1 灭多威、辛硫磷、灭多威+辛硫磷作用下罗非鱼死亡率及其对罗非鱼肝脏 SOD 活性的影响

Figure 1 Death-rates and hepatic SOD activities of tilapia exposed to methomyl, phoxim, and methomyl+phoxim

2.1.2 灭多威和辛硫磷对罗非鱼的联合毒性

灭多威和辛硫磷对罗非鱼的联合毒性实验结果如图 1c 和表 2 所示。由图 1c 可见,各浓度组罗非鱼死亡率从低浓度到高浓度逐渐增加,死亡率的变化具有很强的规律性。通过直线回归法求得的 24、48、96 h 相关系数分别为 0.990、0.998、0.996,经 t 检验可知,各作用时间下的相关系数均达到显著水平 ($P<0.05$)。由表 2 可见,24、48、96 h 混合毒物生物活性分别为 0.81、0.80、0.95;同时,根据相加指数法计算出的灭多威和辛硫磷在 24、48、96 h 的相加指数分别为 0.24、0.26、0.06,各作用时间下的相加指数均大于零(表 2),表明灭多威和辛硫磷之间的联合毒性是协同作用。

2.2 灭多威和辛硫磷对罗非鱼肝脏 SOD 活性的影响

由图 1d 可见,灭多威组、辛硫磷组以及灭多威+

辛硫磷组 3 种染毒条件下,SOD 活性均随着染毒浓度的增加而降低,且与对照组相比均差异显著。同时,灭多威、辛硫磷联合染毒条件下的罗非鱼肝脏 SOD 活性均低于相同条件下单一灭多威或单一辛硫磷作用时的 SOD 活性,且 $(0.28+2.98)\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威+辛硫磷联合作用组的 SOD 活性显著低于 $5.62\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 辛硫磷组 ($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 灭多威和辛硫磷对罗非鱼的单一毒性

本研究显示,灭多威对罗非鱼的 24、48、96 h- LC_{50} 分别为 1.25、0.75、0.43 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,与 Li 等^[15]报道的灭多威对麦穗鱼的 24、48、96 h- LC_{50} 分别为 1.228、0.782、0.425 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 相似;辛硫磷对罗非鱼的 24、48、96 h- LC_{50} 分别为 13.30、6.98、4.58 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,与谢文平

表 1 灭多威和辛硫磷对罗非鱼的单一毒性

Table 1 Toxicity of tilapia exposed separately to methomyl and phoxim

农药	项目	暴露时间		
		24 h	48 h	96 h
灭多威	回归方程	$y=5.707x+4.451\ 8$	$y=5.304\ 3x+5.654$	$y=5.885\ 2x+7.136\ 7$
	相关系数	0.992*	0.990*	0.996*
	LC_{50}	1.25	0.75	0.43
	95%置信限	1.05~1.49	0.63~0.89	0.36~0.51
辛硫磷	回归方程	$y=4.536\ 7x-0.097\ 9$	$y=4.832\ 4x+0.923\ 4$	$y=4.246\ 8x+2.193\ 1$
	相关系数	0.997*	0.990*	0.995*
	LC_{50}	13.30	6.98	4.58
	95%置信限	10.65~16.61	5.79~8.41	3.70~5.66

注:* 表示相关显著 ($P<0.05$)。

表 2 灭多威和辛硫磷对罗非鱼的联合毒性

Table 2 Joint toxicity of methomyl and phoxim to tilapia

农药	项目	暴露时间		
		24 h	48 h	96 h
灭多威	回归方程	$y=3.966x+6.181\ 9$	$y=4.889\ 4x+7.714\ 8$	$y=6.995\ 6x+9.839\ 3$
	相关系数	0.990*	0.998*	0.996*
	LC_{50}	0.50	0.28	0.20
	95%置信限	0.40~0.62	0.23~0.34	0.17~0.23
辛硫磷	回归方程	$y=3.977\ 4x+2.101\ 7$	$y=4.881\ 9x+2.695$	$y=6.986\ 1x+2.657\ 5$
	相关系数	0.990*	0.998*	0.996*
	LC_{50}	5.35	2.97	2.16
	95%置信限	4.26~6.71	2.46~3.57	1.86~2.50
效应评价	混合毒物生物活性(S)	0.81	0.80	0.95
	相加指数(AI)	0.24	0.26	0.06
	结论	协同效应	协同效应	协同效应

注:* 表示相关显著 ($P<0.05$)。

等^[16]报道的辛硫磷对草鱼的 24、48、96 h- LC_{50} 分别为 15.34、8.88、5.74 $mg \cdot L^{-1}$ 相似。资料统计表明,灭多威对鱼类的 96 h- LC_{50} 变化在 0.023~3.4 $mg \cdot L^{-1}$ 之间^[15,17],波动范围极大,最大值是最小值的 147.8 倍。在急性试验中,产生这些差异的原因主要有 3 个方面:首先是药物的纯度,药物中所含的杂质本身就可能与药物产生联合作用(拮抗作用、相加作用、协同作用),因此不同纯度的同种药物会对同种规格的同种鱼类产生不同的毒性;其次是鱼的健康状况和种类差异,同一种药物即便是对同种规格的不同鱼类,毒性也会有很大差异;第三是试验用水的理化特征对试验结果的影响,如 DO、pH 值、碱度、硬度等。

3.2 灭多威和辛硫磷对罗非鱼的联合毒性

在环境和渔业污染事故中,产生毒性的污染物并非只是一个种类,某些污染物之间会存在联合作用,因此化合物之间的联合毒性研究比单一毒性的研究具有更重要的意义。目前,对于人类环境中存在的多种污染物的联合毒性作用及其机理的认识还不够^[18]。为弄清毒物间的联合毒性效应,需要进行大量的毒性试验。由于水生毒理试验具有快速、敏感及经济有效的特点,已被国内外学者公认为是研究水环境毒物间联合作用的重要手段。

目前有关灭多威和辛硫磷对鱼类联合毒性的研究尚未见报道。从本试验结果看,在 24、48、96 h 3 个作用时间下,灭多威和辛硫磷之间的联合毒性都表现为协同作用。这与灭多威和辛硫磷混剂对棉铃虫的联合毒性效应一致^[19]。然而,李宏辉等^[20]研究显示,灭多威和辛硫磷混合剂对大鼠的联合毒性表现为拮抗作用;孙金秀等^[21]观察到辛硫磷和灭多威混剂对大鼠的急性经口 LD_{50} 为相加作用;吕京等^[22]对家兔的研究显示,辛硫磷和灭多威的联合毒性没有表现出明显的协同或拮抗作用。灭多威和辛硫磷对生物的联合毒性效应研究结果的差异性可能主要是由试验生物种类和农药混配比例的差异而造成的。由于药物的毒性作用机理不同,导致生物对农药的敏感程度不同,同一种农药对一种生物是高毒的,但对另外一种生物则可能是低毒的。

3.3 灭多威和辛硫磷对罗非鱼肝脏 SOD 活性的影响

SOD 是一种以自由基为底物的抗氧化酶,能有效地清除生物氧化产生的超氧阴离子,保护机体免受氧化损伤,并可作为机体的非特异性免疫指标用于评判免疫刺激因子对机体非特异性免疫力的影响^[23-24]。本研究显示,灭多威组、辛硫磷组以及灭多威+辛硫磷组

3 种染毒条件下,SOD 活性均随着染毒浓度的增加而降低,且与对照组相比均差异显著(图 1d)。说明此时污染物对罗非鱼机体产生了强烈的氧化胁迫,且浓度越高,氧化胁迫越强。分析其原因,可能是当污染物浓度升高时,机体内超氧阴离子对羟胺的氧化反应被抑制,使超氧阴离子含量升高,消耗大量的 SOD,导致 SOD 水平下降;由于正常情况下机体内自由基的产生与清除处于一种动态平衡状态,当产生超氧阴离子的应激原过强时,这种动态平衡被打破,SOD 活性受到抑制,进而导致机体代谢失常。

有关灭多威和辛硫磷对生物 SOD 活性的联合毒性研究方面,虎明明等^[25]研究显示,灭多威和辛硫磷按毒性单位 1:1 混配后,雄性大鼠血清和睾丸 SOD 活性的受抑制程度有所回升,并由此认为灭多威和辛硫磷按毒性单位 1:1 混配对雄性大鼠血清和睾丸 SOD 活性表现为拮抗作用。而本研究显示,灭多威和辛硫磷按毒性单位 1:1 混配条件下的罗非鱼肝脏 SOD 活性均低于相同条件下单一灭多威或单一辛硫磷作用时的 SOD 活性,显示出灭多威和辛硫磷对罗非鱼的联合毒性具有一定的协同效应。这与上述研究有所不同,显示出农药对不同生物的联合毒性效应具有很大的差异性。

由于灭多威和辛硫磷对鱼类是高毒性农药,且其对鱼类的联合毒性存在明显的协同效应,即使其在水体中的含量很低,单一毒性不至于使鱼类产生急性死亡,但两者甚至其他污染物之间的联合效应很可能对鱼类产生更大的潜在危害。

4 结论

(1)灭多威和辛硫磷对罗非鱼的 24、48、96 h- LC_{50} 分别为 1.25、0.75、0.43 $mg \cdot L^{-1}$ 和 13.30、6.98、4.58 $mg \cdot L^{-1}$,安全浓度分别为 0.043 $mg \cdot L^{-1}$ 和 0.458 $mg \cdot L^{-1}$ 。按照农药毒性分级标准,灭多威对罗非鱼是极高毒农药,辛硫磷对罗非鱼是高毒农药,很容易导致鱼类急性中毒死亡。

(2)灭多威和辛硫磷在 24、48、96 h 的相加指数分别为 0.24、0.26、0.06,各作用时间下的相加指数均大于零,表明灭多威和辛硫磷对罗非鱼的联合毒性表现为协同作用。

(3)灭多威和辛硫磷按毒性单位 1:1 混配条件下的罗非鱼肝脏 SOD 活性均低于相同条件下单一灭多威或单一辛硫磷作用时的 SOD 活性,显示出灭多威和辛硫磷对罗非鱼的联合毒性为协同效应,这与相加

指数法研究的联合毒性结果相互印证,表明灭多威和辛硫磷的共存会对鱼类产生更强的毒性作用。在实际的环境评价中,决不能简单地将各单一污染物的毒性相加来判断其综合毒性。

参考文献:

- [1] 王立梅,包鹏云,丁君,等.辛硫磷对刺参幼参的急性毒性效应[J].水产科学,2011,30(1):50-52.
WANG Li-mei, BAO Peng-yun, DING Jun, et al. Acute toxicity of phoxim to sea cucumber *apostichopus japonicus* juveniles[J]. *Fisheries Science*, 2011, 30(1):50-52.
- [2] 刘锋章.农药对自然环境和人类社会的负面影响及危害[J].山东环境,1998(4):70-77.
LIU Feng-zhang. Side effects and hazards of pesticide to natural environment and society[J]. *Shandong Environment*, 1998(4):70-77.
- [3] 沈国兴,严国安,彭金良,等.农药对藻类的生态毒理学研究Ⅱ:毒性机理及其富集和降解[J].环境科学进展,1999,7(6):131-139.
SHEN Guo-xing, YAN Guo-an, PENG Jin-liang, et al. Study on ecotoxicology for pesticides to algae II: Toxic mechanism and accumulation, degradation[J]. *Advances in Environmental Science*, 1999, 7(6):131-139.
- [4] 王静,刘铮铮,潘荷芳,等.浙江省市级饮用水源地氨基甲酸酯农药的分析方法、污染特征及健康风险研究[J].环境化学,2010,29(4):623-628.
WANG Jing, LIU Zheng-zheng, PAN He-fang, et al. Study on analytical method, pollution pattern and health risk for the city raw water of Zhejiang[J]. *Environmental Chemistry*, 2010, 29(4):623-628.
- [5] 武焕阳,OSCAR Ortegon,许莉佳,等.硫丹对草鱼乙酰胆碱酯酶及抗氧化酶活性的影响[J].生态环境学报,2011,20(10):1496-1502.
WU Huan-yang, OSCAR Ortegon, XU Li-jia, et al. Effects of endosulfan on activities of acetylcholinesterase and antioxidant enzyme of *Ctenopharyngodon idellus*[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(10):1496-1502.
- [6] 李子牛,林听听,么宗利,等.盐度对青蛤抗氧化酶活性及生长的影响[J].生态学杂志,2012,31(10):2625-2630.
LI Zi-niu, LIN Ting-ting, YAO Zong-li, et al. Effects of water salinity on the antioxidant enzyme activities and growth of clam *Cyclina sinensis* [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2012, 31(10):2625-2630.
- [7] 毛阿敏,魏克强,赵辉,等.高效氯氰菊酯对克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)抗氧化酶活性的影响[J].农业环境科学学报,2013,32(4):689-696.
MAO A-min, WEI Ke-qiang, ZHAO Hui, et al. Effects of Beta-cypermethrin on antioxidant enzymes activities of *Procambarus clarkii* [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(4):689-696.
- [8] 黄志斐,张喆,马胜伟,等.BDE209胁迫对翡翠贻贝(*Perna viridis*)SOD、MDA和GSH的影响[J].农业环境科学学报,2012,31(6):1053-1059.
HUANG Zhi-fei, ZHANG Zhe, MA Sheng-wei, et al. Effects of BDE209 on the SOD, MDA, GSH of *Perna viridis*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(6):1053-1059.
- [9] 孟顺龙,陈家长,胡庚东,等.低浓度阿特拉津对鲫鱼超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响[J].农业环境科学学报,2007,26(1):170-174.
MENG Shun-long, CHEN Jia-zhang, HU Geng-dong, et al. Effects of low level atrazine exposure on the activities of superoxide dismutase (SOD) in *Carassius auratus*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(1):170-174.
- [10] 修瑞琴,许永香,付迎春,等.水生毒理联合效应相加指数法[J].环境化学,1994,13(3):269-271.
XIU Rui-qin, XU Yong-xiang, FU Ying-chun, et al. Additive index of coefficients for aquatic toxicology[J]. *Environmental Chemistry*, 1994, 13(3):269-271.
- [11] Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1974, 47:469-474.
- [12] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72:248-254.
- [13] 国家环保局.水和废水监测分析方法[M].第3版.北京:中国环境科学出版社,1989:524-531.
State Environmental Protection Agency of China. Standard method for the examination of water and wastewater[M]. Third Edition. Beijing: China Environmental Science Press, 1989:524-531.
- [14] 国家环保局.水和废水监测分析方法[M].第4版.北京:中国环境科学出版社,2002:728.
State Environmental Protection Agency of China. Standard method for the examination of water and wastewater [M]. Fourth Edition. Beijing: China Environmental Science Press, 2002:728.
- [15] Li H X, Jiang H, Gao X W, et al. Acute toxicity of the pesticide methomyl on the topmouth gudgeon (*Pseudorasbora parva*): Mortality and effects on four biomarkers[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2008, 34:209-216.
- [16] 谢文平,马广智,赖子尼.氯氰菊酯和有机磷农药对草鱼鱼种急性及联合毒性[J].水利渔业,2006,26(1):98-101.
XIE Wen-ping, MA Guang-zhi, LAI Zi-ni. Acute and joint toxicities of cypermethrin and organophosphorus pesticides to grass carp fingerling[J]. *Water Conservancy Related Fisheries*, 2006, 26(1):98-101.
- [17] Van-Scoy A R, Monica Y M, Deng X, et al. Environmental fate and toxicology of methomyl[J]. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 2013, 222:93-109.
- [18] Saglio P, Trijasse S. Behavioral responses to atrazine and diuron in goldfish[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1998, 35(3):484-491.
- [19] 熊件妹,朱杏芬,邹耀华,等.灭多威、辛硫磷及其混剂对棉铃虫的毒力测定和田间药效试验[J].江西植保,2003,26(1):11-13.
XIONG Jian-mei, ZHU Xing-fen, ZOU Yao-hua, et al. The toxicological test and field effect of methomyl, phoxim and their mixtures against *Heliothis armigera*[J]. *Jiangxi Plant Protection*, 2003, 26(1):11-13.
- [20] 李宏辉,刘秀芳,马潇,等.辛硫磷和灭多威混配雄性小鼠生殖细胞的毒性作用[J].宁夏医科大学学报,2009,31(5):582-584.
LI Hong-hui, LIU Xiu-fang, MA Xiao, et al. Toxic effects of phoxim and methomyl on male reproductive cells[J]. *Journal of Ningxia Medical*

- University, 2009, 31(5):582-584.
- [21] 孙金秀, 陈波, 姚佩佩. 农药混剂联合毒性评价[J]. 卫生研究, 2000, 29(2):65-68.
- SUN Jin-xiu, CHEN Bo, YAO Pei-pe. Assessment on acute toxicity of combined pesticides[J]. *Journal of Hygiene Research*, 2000, 29(2):65-68.
- [22] 吕京, 崔涛, 谢广云, 等. 辛硫磷与灭多威混配对家兔的急性毒效应[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2001, 19(4):278-280.
- LÜ Jing, CUI Tao, XIE Guang-yun, et al. The toxicodynamics of phoxim plus methomyl in rabbits [J]. *Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases*, 2001, 19(4):278-280.
- [23] 张景飞, 王晓蓉. 2,4-二氯苯酚低浓度长期暴露对鲫鱼肝脏抗氧化系统的影响[J]. 环境科学, 2003, 24(5):136-140.
- ZHANG Jing-fei, WANG Xiao-rong. Effect of long-term exposure of low-level 2, 4-Dichlorophenol on the antioxidant defense system in liver of carassius auratus[J]. *Environmental Science*, 2003, 24(5):136-140.
- [24] 孟顺龙, 臧学磊, 瞿建宏, 等. 亚硝态氮胁迫下罗非鱼对海豚链球菌的易感性及血清超氧化物歧化酶的响应[J]. 生态与农村环境学报, 2013, 29(1):106-109.
- MENG Shun-long, ZANG Xue-lei, QU Jian-hong, et al. Susceptibility of tilapia (*Oreochromis niloticus*) to streptococcus iniae and response of SOD in serum under nitrite nitrogen stress[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2013, 29(1):106-109.
- [25] 虎明明, 刘秀芳, 关霞, 等. 辛硫磷和灭多威对雌性大鼠生殖系统的联合毒性作用[J]. 癌变·畸变·突变, 2008, 20(6):470-474.
- HU Ming-ming, LIU Xiu-fang, GUAN Xia, et al. Joint action of phoxim and methomyl on female rats reproductive toxicity[J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis*, 2008, 20(6):470-474.