

3种有机磷农药对厚壳贻贝幼贝的急性毒性研究

王志铮¹ 周光锋² 朱荟瑾¹ 何杰¹

(¹浙江海洋学院渔业学院, 舟山 316004)

(²舟山市海洋与渔业局, 316000)

摘要 2007年8月间开展了三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏对厚壳贻贝幼贝的急性毒性试验。结果表明,三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏对厚壳贻贝幼贝24、48、72和96h的半致死质量浓度依次为105.065、1537.437和3.796 mg/L; 103.518、1493.609和3.612 mg/L; 102.057、1433.898和3.3473.347 mg/L; 97.150、1357.158和3.067 mg/L。厚壳贻贝幼贝对三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏对安全质量浓度分别为9.715、135.716和0.307 mg/L。各药物对厚壳贻贝幼贝的毒性强度由大到小依次为敌敌畏、三唑磷和乙酰甲胺磷。

关键词 三唑磷 乙酰甲胺磷 敌敌畏 急性毒性 厚壳贻贝幼贝

中图分类号 S912 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2009)01-0103-05

Acute toxicity of three organophosphorus pesticides to juveniles *Mytilus coruscus* Gould

WANG Zhi-zheng¹ ZHOU Guang-feng² ZHU Hui-jin¹ HE Jie¹

(¹Fishery College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316000)

(²Ocean and Fisheries Bureau of Zhoushan City, 316000)

ABSTRACT Acute toxicity of triazophos, acephate and dichlorvos on *Mytilus coruscus* juveniles were studied in aquaculture laboratory of Zhejiang Ocean University in August 2007. The result indicated that the median lethal concentrations (LC₅₀) of triazophos at 24, 48, 72 and 96 hours to *Mytilus coruscus* juveniles were 105.065 mg/L, 103.518 mg/L, 102.057 mg/L and 97.150 mg/L, respectively. LC₅₀ of acephate at 24, 48, 72 and 96 hours to *Mytilus coruscus* juveniles were 1537.437 mg/L, 1493.609 mg/L, 1433.898 mg/L and 1357.158 mg/L, LC₅₀ of acephate at 24, 48, 72 and 96 hours to *Mytilus coruscus* juveniles were 3.796 mg/L, 3.612 mg/L, 3.347 mg/L and 3.067 mg/L. At the same time, it is discovered that the safety concentrations (SC) of triazophos, acephate and dichlorvos on *Mytilus coruscus* juveniles were 9.715 mg/L, 135.716 mg/L and 0.307 mg/L. So the toxicity of the three pesticides to *Mytilus coruscus* juveniles ranked as dichlorvos > triazophos > acephate. Finally, the acute toxicity effects, death jump characteristics and SC of triazophos, acephate and dichlorvos on *Mytilus coruscus* juveniles

浙江省农业科技攻关项目(2006C32009)和浙江省高校中青年学科带头人科研基金共同资助

收稿日期:2007-10-14;接受日期:2007-11-22

作者简介:王志铮(1970-),男,研究员,主要从事海洋生物学与水产养殖学研究。E-mail: wzz_1225@163.com

were discussed.

KEY WORDS Triazophs Acephate Dichlorvos Acute toxicity
Mytilus coruscus juveniles

厚壳贻贝 *Mytilus coruscus* Gould 与同科养殖品种紫贻贝 *Mytilus edulis* 相比,具肉坚味美、营养丰富、抗流抗浪能力强和经济价值高等优点,是一种极具开发潜力的浅海贝类养殖品种。近年来,有关厚壳贻贝人工育苗、海区养成及资源化开发利用方面的研究十分活跃(苏秀榕等 1998;王俊等 2005;祝世军 2005),而关于其生态毒理学方面的研究报道却较为少见(史召贤等 1986)。

有机磷农药作为常用农药,具毒效大、易分解和残留周期短等特点,是导致水域生态环境污染和水生生物中毒死亡的主要潜在因素之一。目前因农药尤其是有机磷农药使用与管理失控而引发的一系列水域环境污染和对其中水生生物影响以及食品安全等问题日益突出(王志铮等 2007a;周常义等 2004;薛秀玲等 2006),已引起政府相关部门和业内学者的广泛关注和重视,合理、有效控制水域中农药的限量水平,已成为保护与改善水域环境,保障水生生物生态安全的重要命题之一。鉴于此,作者于 2007 年 8 月在浙江海洋学院水产养殖实验室内开展了三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏等 3 种有机磷农药对厚壳贻贝幼贝的急性毒性实验,以期为浅海养殖贝类的逆境生理生态研究积累有关资料,为浅海养殖环境的生态风险评估与管理以及相关渔业污染事故处理提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

本研究所用实验动物为浙江嵊泗县金义水产有限公司人工繁育后筏养于嵊泗大玉湾海域的厚壳贻贝幼贝,取后即刻运回实验室并蓄养备用。为保证实验对象的同一性及代表性,选取其壳高优势组(壳高为 5.24 ± 0.42 mm)中的健壮个体作为参试对象。

1.1.2 试剂

乙酰甲胺磷(有效成分及含量:O,S-二甲基乙酰基硫代磷酰胺酯,30%)购自浙江嘉化集团股份有限公司,三唑磷乳油(有效成分及含量:0,0-二乙基-0-1-苯基-1,2,4-三唑基-3-硫代磷酸酯,20%)购自福建建瓯福化工有限公司,敌敌畏乳油(有效成分及含量:2,2-二氯乙烯基二甲基磷酸酯,80%)购自南通江山农药化工股份有限公司。实验时用蒸馏水将各实验药物配成一定质量浓度母液,现用现配。

1.1.3 理化条件

试验用水为经脱脂棉二次过滤的自然海水,平均水温为 $(27.2 \pm 1.0)^\circ\text{C}$,盐度 27~29,pH8.26,水质符合渔业水质标准(GB1607-1989)。

1.2 方法

经预备实验,确定各实验动物的实验药物浓度范围(96 h 后全活浓度上限和全致死浓度下限)后,在室温条件下,以自然状态为对照,以直径 12 cm 的玻璃培养皿为实验容器(实验实际容积为 60 ml),按等差间距法设置若干质量浓度梯度组。采用静水、停食实验法,开展单一药物对厚壳贻贝幼贝的急性毒性实验。每一药物质量浓度梯度各放实验动物 10 个,组内设 3 个重复,连续观察受试对象的活动状况,以多次用镊子夹紧双壳而无自动闭壳反应作为死亡判断标准,及时取出死亡个体,每 24 h 更换实验液 1 次并同时记录死亡率。为减少实验容器对消毒剂的吸附,实验前用对应的药物浓度浸泡实验容器 12 h 以上。

1.3 数据处理

根据实验药物对厚壳贻贝幼贝的急性毒性实验结果,采用概率单位-药物质量浓度直线回归法,在分别求

出各相应观察时段的半致死浓度的基础上,用药物毒性蓄积程度系数 MAC(王志铮等 2007b)分析生物体对药物的蓄积与降减动态,并采用安全浓度 $SC=0.1 \times 96 \text{ hLC}_{50}$ (周永欣等 1989)计算各实验药物的安全浓度。

2 结果

2.1 中毒症状

3 种有机磷农药在不同实验质量浓度下,厚壳贻贝幼贝所呈现的中毒反应与受重金属胁迫下的中毒反应完全一致(周光锋等 2007),即低质量浓度组的实验个体入药后,其活动状况与对照组基本相似,均静栖于实验容器内,48 h 内除少数个体出现半麻醉的“假死”状态外,绝大多数实验个体活动状况几无变化;高浓度组实验个体入药后,即显不安,表现为伸出水管在水中摇摆,露出斧足在容器内做缓慢移动,继而出现实验个体在容器中央聚集和附于容器壁做逃逸状,这两个极为明显之中毒前期症状,12 h 后所有实验残存个体均缩回水管与斧足并紧闭双壳,24 h 后部分个体因不堪忍受实验药物的胁迫,微张双壳表露死亡。随着染毒时间的延长,受试个体在容器内的迁移能力明显减弱,对外界刺激反应也变得较为迟钝,死亡个体数量明显增加。

2.2 三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏对厚壳贻贝幼贝的急性毒性效应

由表 1 可见,随着实验质量浓度的增加和实验时间的延长,3 种有机磷农药对厚壳贻贝幼贝的急性毒性效应均明显增强,死亡率也显著升高。从各药物实验质量浓度设置范围和厚壳贻贝幼贝急性致毒死亡情形来看,敌敌畏对厚壳贻贝幼贝急性毒性分别高于三唑磷近两个数量级,高于乙酰甲胺磷 3 个数量级,毒性强度由大到小依次为敌敌畏、三唑磷和乙酰甲胺磷。其中,三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏的最高取值质量浓度分别是其最低取值质量浓度的 1.13、1.25 和 1.36 倍。从厚壳贻贝幼贝急性致毒死亡情形随时间变化来看,在实验质量浓度设置范围内,各药物致厚壳贻贝幼贝急性死亡的跃变特征表现为:三唑磷对厚壳贻贝幼贝的死亡跃变临界质量浓度在 101~104 mg/L(72~96 h 时段)之间,乙酰甲胺磷的死亡跃变临界质量浓度为 1 300~1 375 mg/L(48~72 h 和 72~96 h 时段)之间,敌敌畏的死亡跃变临界质量浓度为 3.00~3.25 mg/L(48~72 h 时段)、2.75~3.00 mg/L(72~96 h 时段)之间。

表 1 三唑磷、乙酰甲胺磷、敌敌畏对厚壳贻贝幼贝的急性毒性

Table 1 The acute toxicity of Triazophos, Acephate and Dichlorvos to *Mytilus coruscus* Juveniles

药物 Pesticide	实验药物质量浓度(mg/L) Experimental concentration	不同实验时间下的死亡率(%) The mortality in different experimental time			
		24h	48h	72h	96h
三唑磷 Triazophos	92	0	0	10	20
	95	0	0	20	40
	98	0	20	30	50
	101	10	20	40	70
	104	10	30	60	90
	1 225	0	0	10	10
乙酰甲胺磷 Acephate	1 300	0	10	20	30
	1 375	0	20	50	60
	1 450	10	20	50	80
	1 525	20	40	70	100
	2.75	0	0	10	20
敌敌畏 Dichlorvos	3.00	0	10	20	50
	3.25	10	20	50	70
	3.50	10	40	60	80
	3.75	20	40	80	100
对照组 Control		0	0	0	0

3 讨论

3.1 三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏对厚壳贻贝幼贝的急性致毒特征

从实验中毒症状来看,厚壳贻贝幼贝对三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏的避毒途径,在低浓度组是通过闭壳这一消极避毒途径来实现的,在高浓度组则首先利用斧足移动附壁逃逸和聚集实验容器中央等行为进行积极避毒,无效后再以紧闭双壳进行消极避毒,中毒致死过程则均由两壳张开无法再度闭合来完成,这一避毒方式与其受重金属胁迫下的避毒特征等同(周光锋等 2007),可认定为该幼贝受毒物侵袭时的反应通式。

从实验中毒致死时间来看,在染毒 96 h 后致死程度相似的组别中,三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏对厚壳贻贝幼贝的致死效果在各时间段均较为接近,即在幼贝受三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏胁迫下 96 h 后全活浓度上限和全致死浓度下限取值范围内,三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏对幼贝的毒发效应是基本是等同的。也就是说,各有机磷农药间实验取值范围的差别,补偿了它们对幼贝致死效应间的差异。

3.2 三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏对厚壳贻贝幼贝的急性致毒效应与死亡跃变特征

对表 1 作统计学处理得表 2。由表 2 可知,3 种有机磷农药在其实验取值范围内,不同实验质量浓度梯度组的致死效果跟实验时间有一定的关联,即染毒 48 h 内不同试验质量浓度梯度组间差异并不显著($F < F_{0.05}$),48 h 后各组间则均存在显著差异($F > F_{0.05}$)。这与表 2 中的 MAC 值的变动特征相吻,为染毒 48 h 内的 MAC 值(均为最小值)过小所致;建立概率单位-质量浓度对数回归方程,各染毒时间段均显示出较好的相关性($r > 0.810$),表明幼贝受有机磷农药胁迫下的致死率与其实验质量浓度密切相关。

表 2 三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏对贻贝的急性毒性特征分析

Table 2 Analysis on acute toxicity of triazophos, acephate, dichlorvos to juveniles *Mytilus coruscus*

药物 Pesticide	时间(h) Time	回归方程 Regression equation	r	n	F	LC ₅₀ (mg/L)	LC ₅₀ 95%置信限(mg/L) LC ₅₀ confidence limit	MAC (%)	SC (mg/L)
三唑磷 Triazophos	24	$Y=0.6200X-60.1400$	0.866	3	3.000	105.065	[98.487,111.643]		
	48	$Y=0.4480X-41.3760$	0.811	4	3.852	103.518	[100.496,106.540]	19.474	9.715
	72	$Y=0.1220X-7.4510$	0.955	5	302.098	102.057	[99.122,104.992]	18.390	
	96	$Y=0.1670X-11.2240$	0.987	5	113.971	97.150	[94.986,99.314]	61.796	
乙酰甲胺磷 Acephate	24	$Y=0.0277X-37.5870$	0.910	3	4.826	1537.437	[1461.954,1612.920]		
	48	$Y=0.0133X-14.8650$	0.822	5	6.239	1493.609	[1414.051,1573.167]	24.311	
	72	$Y=0.0059X-3.4600$	0.968	5	45.132	1433.898	[1373.237,1494.559]	33.121	
敌敌畏 Dichlorvos	96	$Y=0.0095X-7.8930$	0.998	4	562.978	1357.158	[1307.433,1406.883]	42.568	
	24	$Y=4.9920X-13.9480$	0.829	4	4.381	3.796	[3.504,4.088]		0.307
	48	$Y=4.2120X-10.2130$	0.836	5	6.977	3.612	[3.359,3.865]	25.188	
	72	$Y=2.1320X-2.1350$	0.990	5	144.379	3.347	[3.164,3.530]	36.341	
96	$Y=2.2240X-1.8200$	0.979	4	45.248	3.067	[2.902,3.232]	38.460		

注: $F_{0.05}(1,3)=34.12$; $F_{0.05}(1,4)=21.260$; $F_{0.05}(1,5)=6.608$

毒物对生物体的入侵,势必在生物体内出现蓄积与降减两情形。一旦降减情形明显受抑,蓄积致死情形就会迅速抬头,出现死亡跃变,这时的毒物质量浓度可称为死亡跃变临界质量浓度。本研究中,各药物致厚壳贻贝幼贝急性死亡的跃变特征,与幼贝对药物降减情形明显受抑相吻合,即在实验质量浓度范围内,三唑磷染毒 72 h 前 MAC 值(小于 30%)过小,至 72~96 h 时段出现死亡高峰,死亡跃变现象也同时表露;乙酰甲胺磷、敌敌畏 MAC 值在 48~72 h 时段、72~96 h 时段均达到 30%以上,至 48~96 h 时段出现死亡高峰,表露死亡跃变

(表 1)。同时,以上各药物表露死亡跃变的临界质量浓度均位于相应观察时段的 LC_{50} 值 95% 置信区间之内。造成以上 3 种农药出现不同死亡跃变特征的原因,作者认为是由毒物实验质量浓度取值范围的宽窄(三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏的最高取值质量浓度分别是其最低取值质量浓度的 1.13、1.25 和 1.36 倍)所导致,即取值范围越宽,跃变特征越明显,反之亦然。另从敌敌畏的死亡跃变临界质量浓度随时间变化来看,死亡跃变临界质量浓度范围有随时间前移的倾向。

3.4 关于厚壳贻贝幼贝对敌敌畏、乙酰甲胺磷和三唑磷安全浓度的评价

敌敌畏、乙酰甲胺磷和三唑磷均属具有胃毒和触杀作用的抗性产生缓慢型农药,它们引起受试生物中毒的机制都是通过抑制胆碱酯酶活性,造成体内乙酰胆碱大量蓄积,造成神经传导阻断而引起死亡的。

由表 2 可知,厚壳贻贝幼贝对三唑磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏的安全质量浓度分别为 9.715、135.716 和 0.307 mg/L。若按农药对鱼类毒性等级标准评价(国家环境保护局 1989),三唑磷、乙酰甲胺磷对厚壳贻贝幼贝显低毒,敌敌畏对厚壳贻贝幼贝显中毒;若按农药对溞类毒性等级标准(庄德辉等 1989),除敌敌畏对厚壳贻贝幼贝显低毒外,三唑磷、乙酰甲胺磷对厚壳贻贝幼贝均显微毒。另基于渔业水质标准(GB1606—1989)中有关有机磷类的限量规定(马拉硫磷 ≤ 0.005 mg/L,甲胺磷 ≤ 1 mg/L,甲基对硫磷 ≤ 0.005 mg/L),本研究中除敌敌畏安全质量浓度略小于甲胺磷的规定限量外,其余均远高于规定的标准值。故本研究认为敌敌畏对厚壳贻贝幼贝属中等毒性农药,三唑磷、乙酰甲胺磷为低毒农药。

参 考 文 献

- 王 俊,姜祖辉,陈瑞盛. 2005. 厚壳贻贝的同化率及其生物沉积作用. 中国水产科学,12(2):150~154
- 王志铮,付锋勇,袁桂铮,陈启恒,吴一挺. 2007a. 3 种常见农药对泥螺、彩虹明樱蛤的急性毒性. 浙江海洋学院学报(自然科学版),26(2):132~136
- 王志铮,申屠琰,熊 威. 2007b. 4 种消毒剂对麦瑞加拉鲑鱼幼鱼的急性毒性研究. 海洋水产研究,28(3):92~97
- 史君贤,于谨兰. 1986. 几种重金属离子对厚壳贻贝 *Mytilus coruscus* Gould 胚胎发育影响的初步研究. 东海海洋,1:46~50
- 庄德辉,李植生. 1989. 浮选药剂对溞类的毒性研究. 水生生物学报,13(3):240~249
- 张志杰,张维平. 1991. 环境污染生物监测与评价. 北京:中国环境科学出版社
- 苏秀裕,李太武,丁明进. 1998. 紫贻贝和厚壳贻贝营养成分的研究. 中国海洋药物,2:30~32
- 周常义,严重玲,黄 成,陈维权,池信才. 2004. 三唑磷对泥蚶急性毒性及血清 SOD, CAT 酶活力的影响. 海洋科学,28(12):43~48
- 周光锋,王志铮,杨 阳,林武俊,何 杰. 2007. 4 种重金属离子对厚壳贻贝幼贝的急性毒性. 浙江海洋学院学报(自然科学版),26(4):391~394
- 周永欣,章宗涉. 1989. 水生实验毒性实验方法. 北京:农业出版社
- 国家环境保护局. 1989. 化学农药环境安全评价试验准则. 北京:国家环境保护局,1~25
- 祝世军. 2005. 厚壳贻贝人工育苗技术研究. 齐鲁渔业,9:28~29
- 薛秀玲,袁东星. 2006. 有机磷农药对缢蛏显微结构的影响. 环境化学,25(3):130~134