

## 三唑酮对大型溞 21 天慢性毒性效应

胡方华<sup>1</sup>, 宋文华<sup>1\*</sup>, 丁峰<sup>2</sup>, 郭晶<sup>1</sup>

1. 天津工业大学环境与化学工程学院, 天津 300387
2. 南开大学环境科学与工程学院, 天津 300071

**摘要:** 三唑类杀菌剂是一种在农业上广泛应用的广谱性杀菌剂。三唑类杀菌剂在农田施用后能够向土壤深处迁移和扩散, 从而污染土壤和地下水, 因此三唑类杀菌剂对土壤生态环境能够造成一定的破坏。选择三唑酮为研究对象, 参照经济合作与发展组织(Organization for Economic Co-operation and Development, OECD)标准方法研究三唑酮对大型溞的慢性毒性效应。21 d慢性毒性研究结果表明, 大型溞繁殖指标-内禀增长率是对三唑酮最为敏感的毒性参数。其慢性毒性下限值(LCL)和慢性毒性上限值(UCL)分别为40和80  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。三唑酮对于第2代大型溞染毒的影响比对第1代的影响更大。对第2代恢复的大型溞除了第1次产卵数没有显著性差异, 其他指标都有所变化, 这说明毒物被转移到子代中。

**关键词:** 三唑酮; 大型溞; 慢性毒性

文章编号: 1673-5897(2012)2-171-06 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## 21-d Chronic Toxicity of Triadimefon to *Daphnia magna*

Hu Fanghua<sup>1</sup>, Song Wenhua<sup>1\*</sup>, Ding Feng<sup>2</sup>, Guo Jing<sup>1</sup>

1. School of Environmental and Chemical Engineering, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300387, China
2. College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China

**Received** 10 October 2011 **accepted** 3 November 2011

**Abstract:** Triazole fungicides are widely used in agriculture as broad-spectrum fungicides, which can contaminate deep soil and ground water systems through migration and proliferation. A representative of triazole fungicides-triadimefon was selected to investigate its chronic toxicity to *Daphnia magna* with reference to standard method of Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Results of 21 d chronic toxicity test showed that intrinsic increase rate (one of the reproduction indicators) was the most sensitive indicator to triadimefon. The values of lower chronic limit (LCL) and upper chronic limit (UCL) were 40 and 80  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively. Triadimefon had greater effect on the second generation than the first generation of *Daphnia magna* exposed to toxicant for 21 days. Except the numbers of the first brood, other indicators of the second generations were significantly affected by triadimefon, indicating that the poison could be transferred from the first generations to the offsprings.

**Keywords:** triadimefon; *Daphnia magna*; chronic toxicity

三唑酮是一种目前应用范围广、使用方法灵活、防治效果好和最具开发应用潜力的一类杀菌剂, 其对农作物多种病原菌具有高效、内吸和广谱的作用。

适于防治麦类、玉米、高粱、果树和蔬菜等作物上锈病和白粉病, 兼有保护治疗及铲除作用。三唑酮是一种广谱性三唑类杀菌剂, 含氮杂环中的氮原子能

收稿日期: 2011-10-10 录用日期: 2011-11-03

基金项目: 国家自然科学基金 (Nos. 30800934, 21007045)

作者简介: 胡方华(1984-), 女, 硕士研究生, 主要从事三唑类化合物的环境毒性研究。E-mail: fanghua\_hu@sohu.com;

\* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: songwenhua9316@sina.com

够与细胞色素 P-450 的铁离子结合,从而显示抗菌活性和植物生长调节活性。进入生物体内的三唑酮通过抑制细胞色素 P-450 向麦角甾醇的转化,促使带有缺陷的细胞壁的合成从而产生致畸作用;并通过改变新陈代谢、信号和生长途径的数量产生致癌作用<sup>[1]</sup>。

三唑酮在农田施用后能够向土壤深处迁移和扩散,从而污染土壤和地下水体,并对土壤生态环境造成破坏<sup>[2]</sup>。Vincelli 模拟了三唑酮施用于高尔夫球场后发现,浓度在  $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,三唑酮会大量出现在地表水中<sup>[3]</sup>。研究发现,三唑酮具有胚胎毒性和致畸性。三唑酮会在土壤中进行吸附和解吸,通过雨水的淋溶进入水体造成水体污染,进而在虹鳟鱼和爪蟾体内积累,干预神经嵴细胞的迁移,造成爪蟾胚胎腮弓的畸变<sup>[4-6]</sup>。对小鼠胚胎进行三唑酮处理实验,发现小鼠胚胎发生腮弓和头盖神经缺陷<sup>[7]</sup>。目前三唑酮已被认定为内分泌干扰物。

大型溞是池塘和小溪流中浮游动物的主要组成部分,因此,也是水环境食物网中消费者的重要代表。本研究以三唑酮为测试物质,主要进行了对大型溞  $F_0$  和  $F_1$  代 21 d 慢性毒性及其  $F_1$  代 21 d 恢复实验。观察指标主要有体长、蜕皮次数、生小溞数、初次生小溞时间、初次生小溞数、胎数、死亡率以及内禀增长率的计算。并对每个指标进行了统计分析,预测三唑酮对大型溞的慢性毒性。

目前,关于三唑类杀菌剂对水生生物的毒性研究不多,国内的相关研究涉及更少。毒性研究是热点问题,但现有的研究报告主要是关注三唑酮对动植物个体的影响,这些负面影响对于动物种群乃至生态系统的影响程度目前的研究涉及很少;而三唑酮作为一种水溶性非常大的农药( $20 \text{ }^\circ\text{C}$  时在水中的溶解度为  $260 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) ,进一步研究三唑酮在水中的环境行为是十分必要的,此研究对全面评价三唑酮农药的环境安全性具有极其重要的意义。

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 实验药品与试剂

三唑酮,95% 原药,粉状,景宏化工有限公司。丙酮购于天津津北精细化工有限公司。

### 1.2 实验生物

本实验所采用的受试大型溞 (*Daphnia magna*) 由南开大学环境科学与工程学院环境生态实验室提供,均为实验室培养 3 代以上的单克隆品系。置于光照培养箱中,用  $M_4$  培养基进行培养。仅用新生

绿藻斜生栅藻作为唯一的食物,斜生栅藻按照 OECD (Organization for Economic Co-operation and Development, 经济合作与发展组织) 201<sup>[8]</sup> 的要求配制培养基培养,大型溞和斜生栅藻都培养在  $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ , 每天光照 16 h, 黑暗 8 h, 光照强度  $4000 \text{ lx}$  的环境下,按照 OECD 211 要求<sup>[9]</sup>。

实验前,挑选个体大、怀卵多和游泳能力强的 20~30 只母溞置于 500 mL 的烧杯内,精养喂以新鲜栅藻 3 周。这些大型溞产生的 2~5 代用于实验并称为母代。随意挑选小于 24 h 的幼溞用于慢性毒性实验。幼溞置于盛有 40 mL  $M_4$  培养基的 50 mL 烧杯中,每天喂食斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) ,投饵密度为  $2.0 \sim 3.0 \times 10^5$  个  $\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 每天监测斜生栅藻的密度。

### 1.3 实验设计

21 天慢性毒性实验参考 OECD 标准方法进行<sup>[9]</sup>, 但是为了更准确观察大型溞在农药的作用下生物学参数的变化,实验中每个重复中只加 1 只大型溞,这与 OECD 标准方法不同。通过查阅文献和一系列预实验,实验浓度以急性 48 h  $\text{EC}_{50}$  为基础,采用丙酮为助溶剂,设置 1 个空白对照组和 1 个丙酮最大浓度 (0.01%) 对照组,以及 5 个浓度水平,分别为: 40、80、160、320 和  $640 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  约为 48 h  $\text{EC}_{50}$   $6.63 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  <sup>[10-12]</sup> 的  $1/160 \sim 1/10$ 。每个浓度 20 个平行组。实验溶液用  $M_4$  配制 ( $\text{pH} 7.8 \pm 0.2$ ) 50 mL 烧杯中盛放 40 mL 实验溶液,每个烧杯中放 1 只 6~24 h 的幼溞。实验期间采用半静态实验系统<sup>[13-14]</sup>, 每隔 48 h 更换 1 次实验溶液。每天用新鲜的栅藻 ( $2.0 \sim 3.0 \times 10^5$  个  $\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 喂养大型溞。子代 21 d 慢性毒性实验分别选取每个实验处理组中母溞所生的第 1 胎幼溞  $F_1$  (1st) 20 只 ( $\leq 24 \text{ h}$ ) ,即平行组 20 个,其他条件与以上的慢性毒性实验相同。子代 21 d 恢复实验分别选取每个实验处理组中母溞所生的第 1 胎幼溞  $F_1$  (1st) 20 只 ( $\leq 24 \text{ h}$ ) ,即平行组 20 个,分别放在 40 mL 没有农药的  $M_4$  培养液中 (恢复期) 进行 21 d 的恢复培养,其他条件与以上的慢性毒性实验相同。

### 1.4 实验观察与记录

实验期间每 24 h 观察 1 次,取出新生幼溞,记录母溞第 1 次产卵时间、第 1 次产卵数、蜕皮次数、胎数和死亡率,以及整个实验过程中的产卵次数和总产卵数。将第 21 天的水溞取出,在显微镜下测量其体长 (从头盔至壳刺部的长度)。采用 Lotka<sup>[15]</sup> 方程  $\sum l_x m_x e^{-rx} = 1$  计算大型溞的内禀增长能力/

$r_x$ 。其中  $l_x$  为第  $x$  天每只大型溞的存活率,  $m_x$  为每只母溞在第  $x$  天的产卵数。

### 1.5 数据处理

慢性数据使用统计分析软件 SPSS 16.0 中的 One-way Anova 分析各种指标与对照组差异。

## 2 结果(Results)

为排除营养不均的可能, 暴露在所有浓度下的大型溞都以相同密度的斜生栅藻喂养, 从而可以将影响归结为三唑酮的作用。

从各项指标的测试结果可知, 与水空白比较助溶剂丙酮对大型溞 21 d 的抑制作用不显著, 因此, 丙酮作为助溶剂对本实验结果的影响可以忽略不计。表 1 中列出了  $F_0$  代、 $F_1$  代染毒以及  $F_1$  代恢复条件下大型溞初次产卵时间和初次产卵数的变化。

从表 1 中可以看出,  $F_0$  代的初次产卵时间受三唑酮影响不明显, 只有在三唑酮浓度为  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时才有显著影响,  $F_1$  代染毒后的第 1 次产卵与  $F_0$  代对应浓度比较时间都有所延长, 有显著性差异, 但各

浓度之间没有显著性差异。  $F_1$  代恢复条件下第 1 次产卵时间与水空白比较也都有所延长, 有显著性差异。 暴漏在三唑酮中的大型溞  $F_0$  代、 $F_1$  代染毒以及  $F_1$  代恢复条件下第 1 次产卵数与空白组对比都没有显著性差异。

OECD 推荐用 21 d 大型溞所生的活幼溞数来评价农药对大型溞的毒性效应<sup>[9]</sup>。表 2 中列出了大型溞  $F_0$  代、 $F_1$  代染毒及  $F_1$  代恢复条件下每只母溞产幼溞数以及每只母溞产胎数暴露在不同浓度三唑酮时的变化情况。

从表 2 中可以看出, 低剂量处理下三唑酮对大型溞产幼溞数有所影响。  $F_0$  代  $160$ 、 $320$ 、 $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度组产小溞数目明显下降, 与对照组有显著性差异。  $F_1$  代和  $F_0$  代染毒后的产幼溞数目相比,  $40$ 、 $80$  和  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度组下降很多, 有显著性差异, 而  $160$  和  $320 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度组则无显著变化。  $F_1$  代恢复实验中, 除  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  处理组大型溞产卵数稍有增加, 其余浓度处理组产幼溞数目与  $F_0$  代相比均降低, 产卵数增加的具体原因还有待进一步研究。

表 1 大型溞  $F_0$  代、 $F_1$  代染毒及  $F_1$  代恢复实验中初次产卵时间和初次产卵数

Table 1 Days of first breeding and number of eggs in  $F_0$  generation,  $F_1$  generation and  $F_1$  generation (recovery) of *D. magna*

浓度组/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	初次产卵时间/d			初次产卵数/n		
	$F_0$ 代染毒	$F_1$ 代染毒	$F_1$ 代恢复	$F_0$ 代染毒	$F_1$ 代染毒	$F_1$ 代恢复
水空白	7.23 ± 0.44 <sup>a</sup>	7.42 ± 0.74 <sup>a</sup>	7.42 ± 0.74 <sup>a</sup>	15.23 ± 0.49 <sup>a</sup>	15.17 ± 0.09 <sup>a</sup>	15.17 ± 0.09 <sup>a</sup>
丙酮对照	7.22 ± 0.44 <sup>a</sup>	7.34 ± 0.67 <sup>a</sup>	7.34 ± 0.67 <sup>a</sup>	15.50 ± 0.14 <sup>a</sup>	15.03 ± 0.17 <sup>a</sup>	15.03 ± 0.17 <sup>a</sup>
40	7.15 ± 0.55 <sup>a</sup>	8.31 ± 0.51 <sup>b</sup>	8.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	14.57 ± 0.83 <sup>a</sup>	14.73 ± 0.37 <sup>ab</sup>	15.80 ± 0.11 <sup>ab</sup>
80	7.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	8.31 ± 0.51 <sup>b</sup>	8.20 ± 0.45 <sup>b</sup>	14.89 ± 0.06 <sup>a</sup>	13.40 ± 0.53 <sup>ab</sup>	15.20 ± 0.68 <sup>a</sup>
160	7.08 ± 0.28 <sup>a</sup>	8.54 ± 0.51 <sup>b</sup>	8.60 ± 0.89 <sup>bc</sup>	14.00 ± 0.05 <sup>a</sup>	12.77 ± 0.77 <sup>a</sup>	14.40 ± 0.30 <sup>a</sup>
320	7.55 ± 0.52 <sup>ab</sup>	8.62 ± 0.87 <sup>b</sup>	8.80 ± 0.45 <sup>c</sup>	13.70 ± 0.42 <sup>a</sup>	12.42 ± 0.45 <sup>a</sup>	14.80 ± 0.39 <sup>a</sup>
640	7.84 ± 0.80 <sup>b</sup>	8.69 ± 0.80 <sup>b</sup>	8.83 ± 0.41 <sup>c</sup>	12.46 ± 0.76 <sup>a</sup>	12.86 ± 0.18 <sup>ab</sup>	14.60 ± 0.95 <sup>a</sup>

注: 表内数据平均值 ± 标准差; 同一列内具有相同字母表示与水空白对照相比差异不显著, 不同字母差异显著,  $p < 0.05$ 。

表 2 大型溞  $F_0$  代、 $F_1$  代染毒及  $F_1$  代恢复每只母溞产幼溞数以及每只母溞产胎数

Table 2 Number of neonates and eggs in every  $F_0$  generation,  $F_1$  generation and  $F_1$  generation (recovery) of *D. magna*

浓度组/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	每只母溞产幼溞数/n			每只母溞产胎数/n		
	$F_0$ 代染毒	$F_1$ 代染毒	$F_1$ 代恢复	$F_0$ 代染毒	$F_1$ 代染毒	$F_1$ 代恢复
水空白	196.60 ± 9.78 <sup>a</sup>	176.81 ± 2.02 <sup>a</sup>	176.8 ± 12.02 <sup>a</sup>	5.60 ± 0.52 <sup>a</sup>	5.53 ± 0.42 <sup>a</sup>	5.53 ± 0.42 <sup>a</sup>
丙酮对照	197.00 ± 13.93 <sup>a</sup>	180.02 ± 7.78 <sup>a</sup>	180.02 ± 7.78 <sup>a</sup>	5.57 ± 0.53 <sup>a</sup>	5.56 ± 0.48 <sup>a</sup>	5.56 ± 0.48 <sup>a</sup>
40	196.83 ± 10.96 <sup>a</sup>	154.60 ± 38.85 <sup>b</sup>	167.20 ± 8.04 <sup>b</sup>	5.42 ± 0.51 <sup>a</sup>	5.60 ± 0.55 <sup>a</sup>	5.90 ± 0.22 <sup>a</sup>
80	182.67 ± 8.12 <sup>a</sup>	149.67 ± 13.97 <sup>b</sup>	161.80 ± 17.80 <sup>b</sup>	5.27 ± 0.46 <sup>a</sup>	5.40 ± 0.55 <sup>ab</sup>	6.00 ± 0.00 <sup>ab</sup>
160	162.5 ± 14.68 <sup>b</sup>	153.00 ± 9.02 <sup>b</sup>	156.00 ± 16.32 <sup>b</sup>	5.27 ± 0.46 <sup>a</sup>	5.00 ± 0.71 <sup>ab</sup>	5.70 ± 0.47 <sup>b</sup>
320	147.00 ± 14.83 <sup>bc</sup>	145.38 ± 18.70 <sup>b</sup>	150.20 ± 7.29 <sup>b</sup>	5.07 ± 0.26 <sup>a</sup>	4.8 ± 0.45 <sup>b</sup>	5.40 ± 0.52 <sup>b</sup>
640	133.08 ± 13.89 <sup>c</sup>	114.00 ± 13.13 <sup>c</sup>	151.60 ± 7.89 <sup>b</sup>	4.57 ± 0.51 <sup>b</sup>	4.83 ± 0.41 <sup>c</sup>	5.00 ± 0.00 <sup>b</sup>

注: 表内数据平均值 ± 标准差; 同一列内相同字母表示与水空白对照相比差异不显著, 不同字母表示差异显著,  $p < 0.05$ 。

经过 21 d 的暴露,  $F_0$  代对照组平均产卵 5.6 代, 与对照组相比, 只有  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度组有显著性差异, 平均产卵 5 代。  $F_1$  代染毒的胎数与第 1 代对应浓度 80、160、320  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  有显著性差异, 40 和  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  没有显著性差异, 且  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度组与前 4 个浓度组有显著性差异。  $F_1$  代恢复的胎数与  $F_0$  代水空白对照比较都有不同程度的下降, 母代暴露在 160、320 和  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度下的与水空白比较有显著性差异, 母代暴露子在 40 和  $80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度下的与水空白组比较没有显著性差异。

表 3 中列出了大型蚤  $F_0$  代、 $F_1$  代染毒及  $F_1$  代恢复条件下 21 d 体长和每只母蚤蜕皮次数在不同三唑酮浓度暴露下的变化情况

从表 3 中可以看出,  $F_0$  代各处理组除了 40 和  $80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的体长与水空白对照组相比无显著差别外, 其他各处理组与空白对照均有显著性的差异, 大型蚤体长均减小。  $F_1$  代染毒下的体长, 40、80 和  $160 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度组与  $F_0$  代相比有显著性降低, 而 320 和  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  没有显著性变化。

表 3 大型蚤  $F_0$  代、 $F_1$  代染毒及  $F_1$  代恢复的 21 d 体长和每只母蚤蜕皮次数

Table 3 Length and times of molting of  $F_0$  generation,  $F_1$  generation and  $F_1$  generation (recovery) of *D. magna*

浓度组/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	21d 体长/mm			每只母蚤蜕皮次数/n		
	$F_0$ 代染毒	$F_1$ 代染毒	$F_1$ 代恢复	$F_0$ 代染毒	$F_1$ 代染毒	$F_1$ 代恢复
水空白	4.30 ± 0.12 <sup>a</sup>	4.26 ± 0.09 <sup>a</sup>	4.26 ± 0.09 <sup>a</sup>	9.80 ± 0.63 <sup>abc</sup>	10.02 ± 0.72 <sup>ab</sup>	10.02 ± 0.72 <sup>ab</sup>
丙酮对照	4.36 ± 0.04 <sup>a</sup>	4.31 ± 0.11 <sup>a</sup>	4.31 ± 0.11 <sup>a</sup>	10.00 ± 0.58 <sup>c</sup>	10.06 ± 0.63 <sup>a</sup>	10.06 ± 0.63 <sup>a</sup>
40	4.31 ± 0.08 <sup>a</sup>	4.05 ± 0.24 <sup>b</sup>	4.15 ± 0.07 <sup>b</sup>	9.83 ± 0.58 <sup>bc</sup>	10.27 ± 0.90 <sup>a</sup>	9.80 ± 0.84 <sup>a</sup>
80	4.27 ± 0.08 <sup>ab</sup>	4.02 ± 0.14 <sup>bc</sup>	4.12 ± 0.07 <sup>bc</sup>	10.00 ± 0.00 <sup>c</sup>	10.07 ± 0.26 <sup>a</sup>	10.00 ± 0.71 <sup>a</sup>
160	4.17 ± 0.06 <sup>b</sup>	4.00 ± 0.11 <sup>bc</sup>	4.08 ± 0.05 <sup>bcd</sup>	9.56 ± 0.63 <sup>abc</sup>	9.64 ± 0.50 <sup>ab</sup>	9.80 ± 0.45 <sup>a</sup>
320	4.00 ± 0.11 <sup>c</sup>	3.98 ± 0.09 <sup>bc</sup>	4.02 ± 0.05 <sup>cd</sup>	9.00 ± 0.57 <sup>ac</sup>	9.23 ± 0.60 <sup>bc</sup>	9.60 ± 0.55 <sup>a</sup>
640	3.92 ± 0.11 <sup>c</sup>	3.92 ± 0.05 <sup>c</sup>	3.99 ± 0.05 <sup>d</sup>	9.00 ± 0.60 <sup>a</sup>	8.62 ± 0.77 <sup>c</sup>	9.40 ± 0.55 <sup>b</sup>

注: 表内数据平均值 ± 标准差; 同一列内具有相同字母表示与水空白对照相比差异不显著, 不同字母差异显著,  $p < 0.05$ 。

表 4 大型蚤  $F_0$  代、 $F_1$  代染毒及  $F_1$  代恢复死亡率和内禀增长率

Table 4 Mortality and intrinsic rate of increase of  $F_0$  generation,  $F_1$  generation and  $F_1$  generation (recovery) of *D. magna*

浓度组/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	死亡率/%			内禀增长率/r		
	$F_0$ 代染毒	$F_1$ 代染毒	$F_1$ 代恢复	$F_0$ 代染毒	$F_1$ 代染毒	$F_1$ 代恢复
水空白	0	0	0	0.36 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.02 <sup>a</sup>
丙酮对照	0	0	0	0.35 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.35 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.01 <sup>a</sup>
40	0	5	0	0.35 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.32 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.32 ± 0.02 <sup>b</sup>
80	0	5	0	0.34 ± 0.02 <sup>bc</sup>	0.32 ± 0.02 <sup>bc</sup>	0.32 ± 0.02 <sup>b</sup>
160	0	5	0	0.33 ± 0.02 <sup>bc</sup>	0.31 ± 0.01 <sup>bc</sup>	0.32 ± 0.01 <sup>b</sup>
320	0	20	5	0.30 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.28 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.31 ± 0.03 <sup>b</sup>
640	0	35	15	0.29 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.26 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.29 ± 0.02 <sup>c</sup>

注: 表内数据平均值 ± 标准差; 同一列内具有相同字母表示与水空白对照相比差异不显著, 不同字母差异显著,  $p < 0.05$ 。

$F_0$  代染毒的蜕皮数与空白对照组比较没有显著性差异。  $F_1$  代染毒的蜕皮数与  $F_0$  代对应浓度没有显著性差异,  $F_1$  代染毒的蜕皮数除了  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度组与水空白比较有显著性差异, 其他 4 个浓度组与水空白比较没有显著性差异。  $F_1$  代恢复的各浓度组与水空白比较均无显著性差异。

表 4 中列出了大型蚤在不同浓度三唑酮暴露下  $F_0$  代、 $F_1$  代染毒及  $F_1$  代恢复实验中的死亡率, 并采用 Lotka 方法计算得到了内禀增长率的变化情况(表 4)。从表 4 中可以看出, 对于  $F_0$  代大型蚤不管是对照组还是暴露在 3 唑酮中, 21 d 后均没有死亡, 但是, 暴露在相同浓度三唑酮中的  $F_1$  代大型蚤都有死亡, 40、80 和  $160 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  造成了 5% 的死亡率, 320 和  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度组分别造成了 20% 和 35% 的死亡率, 死亡率与浓度呈正相关。  $F_1$  代恢复的大型蚤只有 320 和  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度组, 分别有 5% 和 15% 的死亡率。以上结果表明, 三唑酮对大型蚤毒性相对较低, 与之前的研究结果(48h -  $EC_{50}$  为  $6.63 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 一致<sup>[10-12]</sup>。

三唑酮造成比较严重的子代畸形。畸形包括轻微畸形(如外壳脊柱或触角发育不完整)和比较严重的畸形(胚胎发育各个阶段终止发育)。母代暴露在  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  三唑酮的染毒组,即使恢复 21 d,还是会出现轻微的子代畸形(图 1),但是对照组中没有发现。

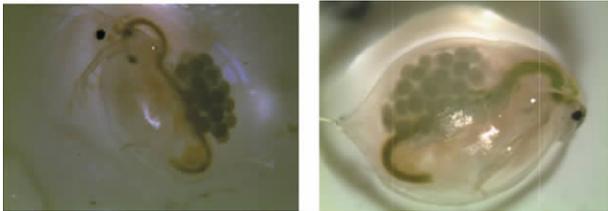


图 1 三唑酮所引起的子代触角发育不完整  
左为正常发育的子代; 右为恢复 21 d 的  $F_1$  代

Fig. 1 Effect of triadimefon on antennae development of offspring. Left is normal developed *D. magna* (control group); Right is  $F_1$  generation transferred to uncontaminated medium for 21-d old

### 3 讨论 (Discussion)

目前,关于三唑类杀菌剂对水生生物的环境毒性相关报道较为少见,而三唑酮应用非常广泛,因此,急需深入了解该杀菌剂对水生环境的风险。有研究表明,三唑酮对斑马鱼 96 h  $IC_{50}$  为  $13.80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  [16]; 三唑酮对大型溞 48 h  $EC_{50}$  为  $6.63 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  [10-12]; 三唑酮对小球藻 72 h  $IC_{50}$  为  $6.70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  [12]; 三唑酮发光菌 15 min  $EC_{50}$  为  $94.40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  [12]。因此,三唑酮对水生环境具有一定的威胁。

三唑酮对大型溞的慢性毒性实验中各毒性指标随三唑酮浓度的变化见表 1~4。在 21 d 慢性毒性实验期间,  $F_0$  代大型溞对照组及各处理组中均没有个体死亡。与对照相比,当浓度为  $80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,三

唑酮开始对大型溞的内禀增长率有显著影响。而当浓度为  $160 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,三唑酮开始对大型溞的产小溞数和体长有显著影响。当三唑酮浓度为  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,其对大型溞  $F_0$  代第 1 次产卵时间、产卵数和产卵胎数有显著影响。由表 1~4 可知,在实验浓度范围内,首次产卵数、蜕皮数与对照组在 0.05 显著性水平上没有显著差异。首次产卵时间、21 d 体长、产幼溞数、胎数和内禀增长率等 5 个指标则有显著差异,表明这 5 个指标为敏感指标。其中最敏感的指标是内禀增长率。由首胎产卵时间、每只母溞总产卵量和胎数等 5 个指标得出  $F_0$  代慢性毒性下限值 LCL 和慢性毒性上限值 UCL,列于表 5。这些现象充分说明了大型溞的各生物学指标对同 1 种药剂的敏感性有所差别。

在 21 d 慢性毒性实验期间,  $F_1$  代染毒大型溞随着三唑酮浓度的增加死亡率随之增加,而对  $F_1$  代恢复实验中的大型溞死亡率影响却很小。三唑酮对染毒的  $F_1$  代影响更大,首次产卵时间、产幼溞数、21 d 体长、内禀增长率在三唑酮的浓度为  $40 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时就受到显著影响。当浓度为  $320 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,开始对  $F_1$  代染毒大型溞的胎数有显著影响。当浓度为  $160 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,  $F_1$  恢复大型溞的胎数开始受到有显著影响。当浓度为  $640 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,  $F_1$  代染毒蜕皮次数受到显著影响。当浓度为  $160 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,  $F_1$  代恢复胎数开始有显著影响。由胎数和蜕皮数 2 个指标得出  $F_1$  代的 LCL 和 UCL,列于表 5。实验过程中,  $F_1$  代大型溞的子代有死亡和畸形现象发生。  $F_1$  代恢复实验,尽管大型溞在无毒性培养基中进行恢复,也观察到大型溞死亡、新生儿畸形的现象,这可能是三唑酮在大型溞母体中富集并转移到了子代体中。染毒浓度和对毒物的转移可能是影响结果的根本原因。

表 5 三唑酮对大型溞的慢性毒性试验结果

Table 5 Results of chronic toxicity of triadimefon to *D. magna*

项 目	首次产卵 时间/d	每只母溞产 幼溞数/只	每只母溞 产胎数/n	21d 体长 /mm	每只母溞 蜕皮次数/n	内禀增长 力 /r	
$F_0$ 代	LCL/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	320	80	320	80	N/A	40
	UCL/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	640	160	640	160	N/A	80
$F_1$ 代染毒	LCL/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	N/A	N/A	160	N/A	320	N/A
	UCL/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	N/A	N/A	320	N/A	640	N/A
$F_1$ 代恢复	LCL/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	N/A	N/A	80	N/A	N/A	N/A
	UCL/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	N/A	N/A	160	N/A	N/A	N/A

注: N/A 表示没有获得有效数据。

三唑酮对大型溞的 48 h 急性毒性  $EC_{50}$  为  $6.63 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  [10-12]。按照 OECD 划定的污染物对水生生物毒性分级标准 [17], 三唑酮对大型溞属于有毒污染物。而 21 d 慢性毒性研究中, 暴露在 1/160 ~ 1/10  $EC_{50}$  (48 h) 浓度的三唑酮下, 大型溞种群的生长和生存均受到负面影响, 繁殖力下降。三唑酮在土壤中属中等残效其降解半衰期与土壤类型有关有报道指出其降解半衰期为 14 ~ 60 d, 平均值为 26 d。三唑酮及其残留物为中度移动性。温度范围为  $-45 \sim 25^\circ\text{C}$ , 在 pH 为 3.0、6.0 和 9.0 的缓冲水溶液中, 可稳定存在。其中在  $22^\circ\text{C}$  时其半衰期大于 1 年 [18]。因此, 三唑酮对水生生物的长期慢性威胁不容人们忽视。

本研究表明, 三唑酮对大型溞具有慢性毒性。而且, 后代畸形的高发生率值得人们关注。到目前为止, 三唑酮的这些效应对环境风险评价的相关性还不清楚。OECD 准则的标准繁殖测试没有考虑后代的质量和胚胎发育, 具有一定的局限性。因此, 自然界中, 大型溞如果暴露在本实验浓度下, 种群的数量将会下降。同时大型溞发生畸形和流产的机理, 需我们进行更进一步的研究。同样正在广泛使用的其他三唑类杀菌剂所引起的环境风险应引起人们足够的重视。

通讯作者简介: 宋文华 (1964—), 男, 环境化学博士, 教授, 主要研究方向为环境毒理学。

#### 参考文献:

- [1] Ward W O, Delker D A, Hester S D, et al. Transcriptional profiles in liver from mice treated with hepatotumorigenic and nonhepatotumorigenic triazole conazole fungicides: Propiconazole, triadimefon, and myclobutanil [J]. *Toxicologic Pathology*, 2006, 34(7): 863–878
- [2] 薛南冬, 杨仁斌. 丙硫克百威在几种土壤中的迁移和降解研究 [J]. *土壤学报*, 2003, 40(1): 130–135  
Xue N D, Yang R B. Studies on the translocation and degradation of benfuracard in different soils [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(1): 130–135 (in Chinese)
- [3] Vincelli P. Simulations of fungicide runoff following applications for turfgrass disease control [J]. *Plant Disease*, 2004, 88(4): 391–396
- [4] Papis E, Bernardini G, Gornati R, et al. Triadimefon causes branchial arch malformations in *Xenopus laevis* embryos [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2006, 13(4): 251–255
- [5] Papis E, Bernardini G, Gornati R, et al. Gene expression in *Xenopus laevis* embryos after triadimefon exposure [J]. *Gene Expression Patterns*, 2007, 7(1): 137–142
- [6] Gorpelli S, Pennati R, De Bernardi F, et al. Teratogenic effects of two antifungal triazoles, triadimefon and triadimenol on *Xenopus laevis* development: Craniofacial defects [J]. *Aquatic Toxicology*, 2005, 73(4): 370–381
- [7] Meneqola E, Broccia M L, Di Renzo F, et al. Craniofacial and axial skeletal defects induced by the fungicide triadimenol in the mouse [J]. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 2005, 74(2): 185–195
- [8] Organisation for Economic Co-operation and Development. Method 201 Guideline for Testing of Chemicals, Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test [S]. Paris: Environment Health and Safety Publications, 2004
- [9] Organisation for Economic Co-operation and Development. Method 211 Test Guidelines for Testing of Chemicals *Daphnia Magna* Reproduction Test [S]. Paris: Environment Health and Safety Publications, 1998
- [10] 宋文华, 郭晶, 丁峰, 等. 三唑类农药对大型蚤急性毒性二维 QSAR 研究 [J]. *天津师范大学学报: 自然科学版*, 2009, 29(2): 47–51  
Song W H, Guo J, Ding F, et al. 2D-QSAR study of the acute toxicity effects of triazole pesticides on *D. magna* [J]. *Journal of Tianjin Normal University: Natural Science Edition*, 2009, 29(2): 47–51 (in Chinese)
- [11] 郭晶, 宋文华, 丁峰, 等. 三唑类杀菌剂对大型溞急性毒性研究 [J]. *南开大学学报: 自然科学版*, 2009, 42(3): 76–80  
Guo J, Song W H, Ding F, et al. Acute toxicity study of triazole fungicides exposure to *Daphnia magna* [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis*, 2009, 42(3): 76–80 (in Chinese)
- [12] 郭晶. 三唑类杀菌剂水生生物定量结构-毒性关系研究 [D]. 天津: 天津工业大学, 2010: 31–54
- [13] U. S. EPA Guidelines for Deriving Numerical National Water Quality Criteria for the Protection of Aquatic Organism and Their Uses [S]. Washington: National Technical Information Service, 1985
- [14] Paul C F, Grothe D W, Scheuring J C. Chronic toxicity of 4-Nitrophenol to *D. magna* straus under static-renewal and flow-through conditions [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1957, 36(5): 730–737
- [15] 张清敏, 李洪远, 王兰. 环境生物学实验技术 [M]. 北京: 北京化学工业出版社, 2005: 106–108.
- [16] 郭晶, 宋文华, 丁峰, 等. 三唑类杀菌剂对斑马鱼急性毒性研究 [J]. *东南大学学报: 医学版*, 2010, 29(4): 402–406  
Guo J, Song W H, Ding F, et al. Acute toxicity study on zebrafish (*Danio rerio*) exposure to triazole fungicides [J]. *Journal of Southeast University: Medicine Science Edition*, 2010, 29(4): 402–406 (in Chinese)
- [17] Organisation for Economic Co-operation and Development, Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances [C]. The 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, 1998
- [18] 牛红红. 三唑酮及代谢物在甘蓝, 土壤中的残留及有机质对其降解影响研究 [D]. 吉林: 吉林农业大学, 2005: 5–6