

新型农药单啞磺隆、单啞磺酯 对鱼腥藻光合作用的影响

裴红艳¹, 薛维纳², 杜志香³, 沈建英⁴, 陈德辉¹

(1. 上海师范大学 生命与环境科学学院, 上海 200234; 2. 山东建筑工程学院, 山东 250001;

3. 山东泗水实验中学, 山东 273200; 4. 上海交通大学, 上海 200030)

摘要: 两种新型农药单啞磺隆、单啞磺酯是新型磺酰脲类化合物. 采用生物测试中光合抑制率的方法来研究两种新型农药对藻类光合作用的影响. 实验表明, 这两种新型农药在低浓度时就已经对鱼腥藻的光合作用产生影响. 其 EC_{50} 值分别为 8.46×10^{-3} , 7.46×10^{-4} , 5.89×10^{-3} ; 6.67×10^{-4} , 5.00×10^{-3} , 5.59×10^{-3} mg/L. 实验所用3种鱼腥藻在两种新型农药影响下, 浓度越高光合抑制率越高.

关键词: 单啞磺隆; 单啞磺酯; 鱼腥藻; 光合作用; 毒性

中图分类号: Q946.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-5137(2006)01-0105-06

0 引言

农药是农业生产中必需的生产资料, 又是一类对环境有害的有毒化学品. 随着现代农业的发展, 世界范围内使用的农药品种越来越多, 用量也不断增加. 施于环境中的农药, 不仅作用于靶生物以防治病害, 而且对非靶生物也产生影响, 从而导致生态系统结构改变、功能破坏. 开发高效、低毒、低残留、高选择性的农药品种, 制定安全的农药使用技术与管理制度, 才能充分发挥农药在防治病、虫、草害中的功效, 将其对生态环境的危害控制到最小程度. 单啞磺隆化学名称为2-硝基-N-[2-(4-甲基啞啉基)]苯磺酰脲. 该药是我国自己创制开发的一种新型磺酰脲类除草剂. 经动物试验无3致(致癌、致畸、致突变)问题, 属低毒农药^[1]. 单啞磺酯是继单啞磺隆之后创制的又一个高效磺酰脲类除草剂. 化学名称:N-[2-(4-甲基)啞啉基]-2-甲酸甲酯苯磺酰脲^[2]. 对于任何一种农药, 为了确保其对生态环境的安全性, 从研制开始到生产使用, 直至农药在环境中消失的全过程, 都需要农药环境毒理学的评价, 农药对生态环境的安全性评价, 以及农药的环境监测与环境管理工作的参与与配合. 本实验是以两种化合物对非靶生物藻类所产生毒性影响的研究来评价其对生态环境的影响.

本实验选择3种鱼腥藻即固氮鱼腥藻, 满江红鱼腥藻, 水华鱼腥藻为实验生物, 研究化合物单啞磺隆、单啞磺酯对其的毒性, 为探讨农药对藻类的毒性强弱.

收稿日期: 2005-10-29

基金项目: 上海市教育发展基金资助(04DB12).

作者简介: 裴红艳(1975-), 女, 上海师范大学生命与环境科学学院硕士研究生; 陈德辉(1962-), 男, 上海师范大学生命与环境科学学院副教授.

1 材料与方法

1.1 实验材料

固氮鱼腥藻(*Anabaena azollae* Ley);

满江红鱼腥藻(*Anabaena azotica*);

水华鱼腥藻(*Anabaena flos-aquae* (Lyngh) Breb).

1.2 主要试剂与仪器

试剂: BG-11 培养基.

仪器: 光照培养箱、冷冻离心机、高压灭菌锅、721 型分光光度计、显微镜, 30mL 试剂瓶.

1.3 实验设计

正式实验开始前, 先进行预实验找出农药致毒范围. 正式实验共设 4 组, 其中设置 3 个浓度梯度 (1.00×10^{-1} , 1.00×10^{-2} , 1.00×10^{-3} mg/L), 每个浓度为 1 组, 每组包括 1 个原初瓶(不加农药), 1 个光照瓶(加农药). 另外 1 组为对照组都不加农药, 包括 1 个原初瓶, 1 个光照瓶. 每组 3 个平行.

1.4 实验步骤及方法

1.4.1 驯化培养

藻种的转接、驯化培养和测试试验均按无菌操作进行. 将鱼腥藻在无菌条件下转移至 BG11 人工培养基中, 培养至对数生长期进一步扩大培养. 培养条件为: 温度 25 ~ 28℃; pH 值 7 ~ 8; 白色日光灯, 光暗比 12 h/12 h, 光强为 $60 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$; 静止培养, 每天定时人工摇动 3 次.

1.4.2 藻暴露致毒

将预培养的藻液($\lambda = 450\text{nm}$, $\text{OD} = 0.10$) 灌入 30mL 试剂瓶内, 分别加入农药, 每组的原初瓶当场用碘量法测溶解氧^[5], 光照瓶放在光照培养箱内, 光照 24h 后测各瓶内溶液中的溶解氧.

1.4.3 计算

(1) 溶解氧计算: 参见参考文献[3].

(2) 计算光合放氧: $P = L - O$ (P - 光合放氧, L - 光照瓶溶解氧, O - 原初瓶氧).

(3) 计算光合抑制率: $I = (P_0 - P_n) / P_0$ (P_0 - 对照瓶的光合放氧, P_n - 某一浓度加农药藻液的光合放氧).

2 结果与讨论

2.1 单噻磺隆对满江红鱼腥藻光合作用影响的实验结果

表 1 显示: 没加农药时的满江红鱼腥藻光合抑制率为 0, 而加入 1.00×10^{-3} mg/L 单噻磺隆的满江红鱼腥藻光合抑制率为 0.21, 加入 1.00×10^{-2} mg/L 单噻磺隆时满江红鱼腥藻光合抑制率为 0.56, 加入 1.00×10^{-1} mg/L 单噻磺隆的满江红鱼腥藻净光合抑制率上升为 0.53. 从以上数据可以很明显看出, 随着单噻磺隆浓度的增加, 光合抑制率随之增高, 到一定浓度就不再增加. 其浓度 - 效应曲线方程为 $y = 0.4272\text{Ln}(x) - 0.0125$, 相关系数 $R^2 = 0.9115$. 当抑制率为 50% 的时候, 其有效抑制浓度 $\text{EC}_{50} = 8.46 \times 10^{-3}$ mg/L.

表1 单噻磺隆对满江红鱼腥藻光合作用影响

农药浓度(mg/L)	原初瓶溶解氧(mg/L)	光照瓶溶解氧(mg/L)	净光合(mg/L)	光合抑制率(%)
0.00	12.67	31.33	18.66	0.00
1.00×10^{-3}	6.00	20.67	14.67	0.21
1.00×10^{-2}	8.00	16.00	8.00	0.56
1.00×10^{-1}	10.00	18.67	8.67	0.53

2.2 单噻磺隆对水华鱼腥藻光合作用影响的实验结果

没加农药时的水华鱼腥藻光合抑制率同样为0, 而加入 1.00×10^{-3} mg/L 单噻磺隆的水华鱼腥藻净光合抑制率为0.67, 加入 1.00×10^{-2} mg/L 单噻磺隆的水华鱼腥藻净光合抑制率为0.71, 可以从趋势线上很明显看出随着浓度的增加, 抑制率也随之增高. 浓度-效应曲线方程为 $y = 0.6788 \ln(x) + 0.0529$, 相关系数 $R^2 = 0.9001$, 相关系数也比较高. 当抑制率为50%的时候, 其有效抑制浓度 $EC_{50} = 7.46 \times 10^{-4}$ mg/L.

表2 单噻磺隆对水华鱼腥藻光合光合作用影响

农药浓度(mg/L)	原初瓶溶解氧(mg/L)	光照瓶溶解氧(mg/L)	净光合(mg/L)	光合抑制率(%)
0.00	7.33	23.33	16.00	0.00
1.00×10^{-3}	8.00	13.33	5.33	0.67
1.00×10^{-2}	15.33	20.00	4.67	0.71
1.00×10^{-1}	12.16	15.25	3.09	0.81

2.3 单噻磺隆对固氮鱼腥藻光合作用影响的实验结果

如表3所示, 加入 1.00×10^{-3} mg/L 单噻磺隆的固氮鱼腥藻净光合抑制率为0.19, 加入 1.00×10^{-2} mg/L 单噻磺隆的固氮鱼腥藻净光合抑制率为0.76, 加入 1.00×10^{-1} mg/L 单噻磺隆的固氮鱼腥藻净光合抑制率为0.79. 从趋势线上可以很明显看出随着浓度的增加, 抑制率随之增高. 浓度-效应曲线方程为 $y = -0.048x^2 + 0.4989x - 0.5041$, 相关系数 $R^2 = 0.9126$, 相关系数很高. 当抑制率为50%的时候, 其有效抑制浓度 $EC_{50} = 5.89 \times 10^{-3}$ mg/L.

表3 单噻磺隆对固氮鱼腥藻光合抑制率

农药浓度(mg/L)	原初瓶溶解氧(mg/L)	光照瓶溶解氧(mg/L)	净光合(mg/L)	光合抑制率(%)
0.00	7.47	41.33	33.86	0.00
1.00×10^{-3}	7.33	34.67	27.34	0.19
1.00×10^{-2}	8.67	16.67	8.00	0.76
1.00×10^{-1}	8.67	15.67	7.00	0.79

2.4 单噻磺酯对满江红鱼腥藻光合作用影响的实验结果

由表4数据可以看出, 单噻磺酯对满江红鱼腥藻的毒性较强, 加入 1.00×10^{-3} mg/L 单噻磺酯的满江红鱼腥藻光合抑制率就达到0.75, 加入 1.00×10^{-2} mg/L 单噻磺酯的满江红鱼腥藻净光合抑制率为0.75, 加入 1.00×10^{-1} mg/L 单噻磺酯的满江红鱼腥藻光合抑制率为0.82. 从趋势线上可以很明显

看出随着浓度的增加,抑制率随之增高.而且在低浓度时已经表现很高的抑制率.浓度-效应曲线方程为 $y = -0.1696x^2 + 1.0944x - 0.8837$, 相关系数 $R^2 = 0.9255$, 相关系数很高.当抑制率为50%的时候,其有效抑制浓度 $EC_{50} = 6.67 \times 10^{-4}$ mg/L.

表4 单噻磺酯对满江红鱼腥藻光合抑制率

农药浓度(mg/L)	原初瓶溶解氧(mg/L)	光照瓶溶解氧(mg/L)	净光合(mg/L)	光合抑制率(%)
0.00	12.67	31.33	18.66	0.00
1.00×10^{-9}	9.33	14.00	4.67	0.75
1.00×10^{-8}	9.33	13.33	4.00	0.79
1.00×10^{-7}	9.33	12.67	3.34	0.82

2.5 单噻磺酯对水华鱼腥藻光合作用影响的实验结果

如表5所示,加入 1.00×10^{-3} mg/L 单噻磺酯的水华鱼腥藻净光合抑制率为0.104,从趋势上可以很明显看出随着浓度的增加,抑制率随之增高.而且在低浓度时抑制率表现不明显.浓度-效应曲线方程为 $y = 0.1044 \ln(x) - 0.1044$. 当抑制率为50%的时候,其有效抑制浓度 $EC_{50} = 5.00 \times 10^{-3}$ mg/L.

表5 单噻磺酯对水华鱼腥藻光合抑制率

农药浓度(mg/L)	原初瓶溶解氧(mg/L)	光照瓶溶解氧(mg/L)	净光合(mg/L)	光合抑制率(%)
0.00	7.33	23.33	16	0.00
1.00×10^{-3}	6.67	21	14.33	0.10
1.00×10^{-2}	7.67	15	7.33	0.54
1.00×10^{-1}	10.67	16.32	5.65	0.65

2.6 单噻磺酯对固氮鱼腥藻光合作用影响的实验结果

当单噻磺酯的浓度为 1.00×10^{-3} mg/L 时固氮鱼腥藻净光合抑制率为0.23,加入 1.00×10^{-2} mg/L 单噻磺酯的固氮鱼腥藻净光合抑制率为0.76,加入 1.00×10^{-1} mg/L 单噻磺酯的固氮鱼腥藻净光合抑制率为0.80.从趋势线上可以很明显看出随着浓度的增加,抑制率随之增高.浓度-效应曲线方程为 $y = 0.631 \ln(x) - 0.0515$, 相关系数 $R^2 = 0.9121$, 相关系数很高.当抑制率为50%的时候,其有效抑制浓度 $EC_{50} = 5.59 \times 10^{-3}$ mg/L.

表6 单噻磺酯对固氮鱼腥藻光合抑制率

农药浓度(mg/L)	原初瓶溶解氧(mg/L)	光照瓶溶解氧(mg/L)	净光合(mg/L)	光合抑制率(%)
0.00	7.47	41.33	33.86	0.00
1.00×10^{-3}	7.33	34.67	26	0.23
1.00×10^{-2}	8.67	16.67	8	0.76
1.00×10^{-1}	8.67	15.33	6.66	0.80

4 讨论

农药生态风险的科学评价不仅有利于充分发挥农药在防治病、虫、草害中的功效,而且也可将对生态环境的危害控制到最小程度.而生态毒理评价是农药生态风险评价的重要组成部分之一.

作为水生生态系统初级生产者的藻类, 其种类的多样性和初级生产量会直接影响水生生态系统的结构功能, 因而成为监测评价水环境质量的重要指示生物^[3]. 藻类对毒物敏感、易获得、个体小、繁殖快, 在较短时间内可得到化学物质对其许多世代及种群水平影响的评价, 是一种很好的测试生物.

秦文弟的综述^[6]认为, 藻类对农药反应的机理一般表现为藻类光合作用、呼吸作用、生物膜和藻类生化组分等受农药的影响. 大量研究表明, 藻类对农药反应的机理的一个重要方面是藻类光合作用受农药影响. 如, 普通小球藻、纤细裸藻和土生绿球藻的光合作用受伏草隆的抑制^[7]. 藻类光合作用电子传递受西玛津、杀草快、莠去津、除草定、敌草隆的阻碍^[8-9]. 藻的呼吸作用也受农药影响. Mohapatra 等^[10]发现聚球藻的呼吸作用在乐果浓度 10 ~ 300mg/L 时增强; Yamana 和 Morita^[11]观察到藻类的呼吸作用受有机磷杀虫剂的影响. 藻类生物膜也受农药影响. 藻类生物膜受农药影响主要在于藻类生物膜的正常功能受农药影响, 如莱哈衣藻生物膜的正常功能受有机磷杀虫剂伏杀磷的影响^[12]. 同时藻类呼吸作用、生物膜和生化组分的破坏也会影响到藻类的光合作用.

秦文弟等报道^[13]了 6 种氨基甲酸酯类农药对水华鱼腥藻的 96 h EC₅₀ 值. 不同氨基甲酸酯类农药对水华鱼腥藻都有不同程度的毒性效应, 其毒性为: 甲萘威 > 速灭威 > 克百威 > 残杀威 > 异丙威 > 丁硫克百威. 其中, 丁硫克百威毒性最小, 它的 96 h EC₅₀ 值达到 163.49mg/L, 比毒性最大的甲萘威的毒性 4.35mg/L 小 40 倍.

通过两种新型农药单啞磺隆、单啞磺酯对 3 种鱼腥藻光合作用的影响的研究, 可以得出其 24h 的 EC₅₀ 值在 0.0007 ~ 0.0085mg/L 之间. 单啞磺隆对 3 种鱼腥藻毒性大小依次为: 水华鱼腥藻、固氮鱼腥藻、满江红鱼腥藻. 单啞磺酯对 3 种鱼腥藻的毒性大小依次为满江红鱼腥藻、水华鱼腥藻、固氮鱼腥藻. 如表 7 所示, 单啞磺酯对满江红鱼腥藻的毒性要远大于单啞磺隆, 而单啞磺隆对水华鱼腥藻的毒性则大于单啞磺酯, 两者对固氮鱼腥藻的毒性差别不大. 但是比氨基甲酸酯类农药的毒性大的多.

表 7 单啞磺隆、单啞磺酯对鱼腥藻 24h 光合抑制率 (EC₅₀ mg/L)

	满江红鱼腥藻	水华鱼腥藻	固氮鱼腥藻
单啞磺隆	8.46×10^{-3}	7.46×10^{-4}	5.89×10^{-3}
单啞磺酯	6.67×10^{-4}	5.00×10^{-3}	5.59×10^{-3}

两种农药对藻类光合作用的毒性在低浓度时已经表现显著了, 这两种农药如果进入水环境, 会对水中的藻类的光合作用产生较大影响. 其特点是体现在易分解和低残留量上^[1-2]. 由于本实验是在实验室培养条件下进行的, 与自然环境中农药使用后对藻类及生态环境影响的情况还有所不同, 所以对上述两种农药能否投入使用, 本文仅提供藻类方面的初步依据, 有关它们对整个生态环境的毒性影响, 有待进一步研究和评价.

参考文献:

- [1] 陈建宇, 王海英, 范志金, 等. 单啞磺隆稳定性的研究[J]. 四川师范大学学报(自然科学版), 2002, 25(3): 313 - 315.
- [2] 范志金等, 陈建宇, 王海英, 等. 10% 单啞磺酯可湿性粉剂的 HPLC 分析[J]. 农药, 2004, 43(7): 321 - 322.
- [3] KOBRAEI M E, WHITE D S. Effects of 2, 4 - Dichloroenoxyacetic acid on Kentucky algae : simultaneous laboratory

- and field toxicity testings[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 1996, 31 : 571 - 580.
- [4] 高玉荣. 杀虫剂单甲脒对绿藻的毒性研究[J]. 环境科学学报, 1995, 15 (1) : 92 - 97.
- [5] 金相灿, 屠清瑛. 湖泊富营养化调查规范[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990.
- [6] 秦文弟. 应用藻类监测农药对环境污染的现状[J]. 丽水师范专科学校学报, 2004, 26(2) : 46 - 48.
- [7] ZABLOTOWICA R M, et al. Algal transformation of fluometuron and atrazine by a - dealkylation[J]. Jour Environ Sci Health Part B, 1998, 33 (5) : 511 - 528.
- [8] BESTER K, et al. Biological effects of triazine herbicide contamination on marine phytoplankton[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 1995, 29 : 277 - 283.
- [9] MELENDEZ A L, et al. Effects of diquat on freshwater microbial communities[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 1993, 25 : 95 - 101.
- [10] MOHAPATRA, MOHANTY. Growth pattern changes of *Chlorella vulgaris* and *Anabaena doliolum* due to toxicity of dimethoate and endosulfan[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1992, 49 : 576 - 581.
- [11] YAMANO T, MORITA S. Effect of pesticides on isolated rat hepatocytes, mitochondria and microsomes[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 1993, 25 : 271 - 278.
- [12] NETRAWALI M S, GANHI S R. Mechanism of cell destructive action of organophosphorus insecticide phosalone in *Chlamydomonas Reinhardtii* algal cells[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1990, 44 : 819 - 825.
- [13] 秦文弟, 强继业, 夏更寿. 氨基甲酸酯类农药对水华鱼腥藻的毒性效应[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(3) : 391 - 392.

Effects of two kinds of new-type pesticide Monosulfuron and Monosulfuron-ester on the Photosynthesis rate of *Anabaena*

PEI Hong-yan¹, XUE Wei-na², DU Zhi-xiang³, SHEN Jian-ying⁴, CHEN De-hu¹

(1. College of Life and Environment Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China;

2. Shandong Institute of Architecture & Engineering, Shandong 250001;

3. Shandong Sishui Experimental High School, Shandong 273200; 4. Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030)

Abstract: Two kinds of new-type pesticide Monosulfuron and Monosulfuron - ester are new Sulfonylurea Herbicide. Photosynthetic Inhibition was used as an index of pesticide toxicity. The experiment indicated, these two kind of new pesticide had the effect on photosynthesis of algae under low concentration. The EC_{50} of Monosulfuron were 8.46×10^{-3} , 7.46×10^{-4} , 5.89×10^{-3} . The EC_{50} of Monosulfuron - ester were 6.67×10^{-4} , 5.00×10^{-3} , 5.59×10^{-3} . And the toxicity of pesticide to Photosynthesis of *Anabaena* increased by increasing the concentration of pesticide.

Key words: Monosulfuron; Monosulfuron-ester; *Anabaena*; Photosynthesis Toxicity