

LAS 与百螺敌对泥鳅的联合毒性研究

于淑池 夏秋 (湖州师范学院生命科学学院, 浙江湖州 313000)

摘要 [目的] 研究LAS和百螺敌两种污染物对泥鳅的联合毒性效应及机理。[方法] 在实验室条件下,以静水生物测试法研究了LAS(十二烷基苯磺酸钠)与百螺敌(三苯基乙酸锡)对泥鳅的单一与联合毒性,并采用Marking相加指数法对两者的联合毒性进行了评价。[结果] 单一毒性试验表明,百螺敌对泥鳅为剧毒级,LAS对泥鳅为高毒级。LAS对泥鳅单独作用24、48、72和96 h的 LC_{50} 及安全浓度分别为22.470、20.408、19.364、18.698和5.050 ng/L;百螺敌的相应数值为1.425、1.215、0.938、0.800和0.265 ng/L。联合毒性试验表明,LAS-百螺敌对泥鳅联合作用24、48、72和96 h的AI值分别为0.113、0.235、0.231、0.521,表现出协同效应,并随着时间的增加而增强。[结论] 研究LAS-百螺敌联合毒性对探讨两者对水生生物作用的机理具有现实指导意义。

关键词 LAS;百螺敌;泥鳅急性毒性;半致死浓度;联合毒性

中图分类号 S965.131 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)24-10498-03

Study on Joint Toxicity of LAS and Fentin Acetate on *Msgurnus angullicaudatus*

YU Shuchi et al (School of Life Science, Huzhou Teachers College, Huzhou, Zhejiang 313000)

Abstract [Objective] The propose was to study the joint toxicity effect and mechanism of two contamination as LAS and fentin acetate. [Method] In lab test, the single and joint toxicity of LAS (Sodium dodecyl benzene) and fentin acetate (triphenyl - acetic acid - tin) on *Msgurnus angullicaudatus* was observed by static biology test method and their joint toxicity was evaluated by using Marking additive index method. [Result] The single toxicity test showed that fentin acetate was of hypertoxin and the LAS of high toxin on *M. angullicaudatus*. The LC_{50} of LAS after 24, 48, 72 and 96 h and its safety concn. were 22.470, 20.408, 19.364, 18.698 and 5.050 ng/L, resp. and that of fentin acetate were 1.425, 1.215, 0.938, 0.800 and 0.265 ng/L. The joint toxicity test indicated that the AI of LAS and fentin acetate joint action after 24, 48, 72 and 96 h were 0.113, 0.235, 0.231 and 0.521, resp. which showed that they had the cooperative effect which increased with the time prolonging. [Conclusion] Studying the joint toxicity effect of LAS and Fentin acetate had a realistic guiding significance to discuss their mechanism on aquatic organisms.

Key words LAS; Fentin acetate; *Msgurnus angullicaudatus*; Acute toxicity; Median lethal concentration; Joint toxicity

直链烷基苯磺酸盐是生产和使用量最大的一种阴离子表面活性剂,几乎渗透到了所有的生产生活领域。研究表明,由于大量使用,引起了直链烷基苯磺酸盐在水体中的富集。直链烷基苯磺酸盐皮肤刺激性、致畸性、致变性、致癌性和生物降解性都是人们对其安全性问题应该关注的^[1]。百螺敌的主要成分是三苯基乙酸锡,是一种对稻田福寿螺的防治效果良好的农药杀虫剂^[2],起主要危害的是有机锡化合物^[3],能够引起雌性软体动物变性、哺乳细胞生殖毒性以及人体免疫毒性等。直链烷基苯磺酸盐与百螺敌对生物的单毒害机理已有研究^[4-9],但是关于直链烷基苯磺酸盐-百螺敌对泥鳅的联合急性毒性的研究则未见报道。而泥鳅具有较高敏感性,较之蝌蚪及其他鱼类,具有取材容易、室内饲养易成活等优点。因此,近年来常被用来检测水体的污染情况以及评价污染物对水生生物的遗传损害及毒理效应^[9]。研究这2种污染物对泥鳅的联合毒性效应及机理,旨在判断它们对水生生物可能造成的危害,为正确评价混合污染物的生物效应,保护渔业资源,维持水生生态系统的稳定和安全提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验泥鳅 (*Msgurnus angullicaudatus*)。试验用泥鳅购自湖州市浙北超市。体长为9.30~10.15 cm,体重为3.24~3.05 g。试验前,将泥鳅放入室内玻璃鱼缸内驯养。驯养期间,采用曝气3 d,pH值6.8~7.0的自来水,每天换水1次,投饵1次并及时清除粪便及残饵。试验前1 d停止投饵,选择身体健康,反应灵敏,大小一致的泥鳅随机分组。

1.1.2 试剂。十二烷基苯磺酸钠(LAS),分析纯(AR),购于中国医药集团上海化学试剂公司;百螺敌(45%三苯基乙酸锡可湿性粉剂),购于浙江省温州市沿江工业区(瓯江大桥南首)。

1.2 方法

1.2.1 LAS与百螺敌单一毒性试验。

(1) 预备试验。正式试验前进行浓度范围选择试验,观察24 h的泥鳅反应,推算出LAS和百螺敌(45%三苯基乙酸锡)24 h的最小全致死(100%死亡)浓度和最大全不致死(0死亡)浓度的大致范围。

(2) LAS与百螺敌的单一毒性试验。参照邱郁春^[10]的鱼类毒性试验方法。试验采用96 h半静水试验法。LAS在此范围内按等对数间距设置5个浓度组,同时设1个空白对照组,得到8个浓度梯度(0、15.0、17.5、20.0、22.5、25.0、27.5、30.0 ng/L);而百螺敌(45%三苯基乙酸锡)在此范围内按等对数间距设置4个浓度组,同时设1个空白对照组,得到7个浓度梯度(即0.05、0.8、1.1、1.4、1.7、2.0 ng/L)。每组放入10条泥鳅,试验期间每24 h换液1次,试验开始后前8 h连续进行观察,及时清出死亡个体,然后分别记录24、48、72、96 h试验鱼的中毒症状及死亡情况,试验期间不投饵。

1.2.2 LAS与百螺敌的联合毒性试验。在单一毒性试验的基础上,LAS-百螺敌按毒性单位比1:1的联合毒性试验,经过预备试验,确定联合试验时LAS的浓度组为7.50、8.75、10.00、11.25、12.50、13.75 ng/L;百螺敌的浓度组为0.25、0.40、0.55、0.70、0.85、1.00 ng/L。每浓度组放入10条泥鳅,并设置1个空白对照组。分别记录各浓度组试验鱼在24、48、72、96 h的死亡数。计算出不同暴露时间下联合毒物的 LC_{50} 。

1.2.3 数据处理。单一毒性试验和联合毒性试验中的24、48、72、96 h的 LC_{50} 的测定采用Karber法^[11]:

$$LC_{50} = \lg^{-1} [XK - d(\pi - 0.5)] \quad (1)$$

基金项目 湖州师范学院2008年度校级项目。

作者简介 于淑池(1966-),女,满族,河北平泉人,副教授,从事环境污染与修复研究。

收稿日期 2008-06-06

$$LC_{50} \text{ 的 } 95\% \text{ 可信限} = \lg^{-1}(\lg LC_{50} \pm 1.96 m) \quad (2)$$

$$m = d[(p_i q_i) / n]^{1/2} \quad (3)$$

式中, XK 为最高浓度的对数值; d 为相邻两浓度组之对数差值; p_i 为各浓度组死亡率(以小数表示); q_i 为各浓度组存活率(以小数表示); n 为每组泥鳅条数。

安全浓度(SC) 根据下列公式求算:

$$SC = 48 \text{ h } LC_{50} \times 0.3 / (24 \text{ h } LC_{50} / 48 \text{ h } LC_{50})^2 \quad (4)$$

1.2.4 联合试验中毒性的评估。 根据单一毒性和联合毒性的试验结果, 用 Marking 的相加指数法^[12] 评价联合毒性。公式为:

$$S = (Am/AI) + (Bm/BI) \quad (5)$$

式中, S 为混合毒物生物活性; A 、 B 为试验药剂; I 、 m 为单一、混合毒物的 LC_{50} 值。当 $S = 1$ 时, $AI = (1/S) - 1.0$; 当 $S > 1$ 时, $AI = (S - 1) + 1.0$ 。用 AI 判断联合毒性, 当 $AI = 0$ 时为毒性相加作用; 当 $AI < 0$ 时为拮抗作用; $AI > 0$ 时为协同作用。

2 结果与分析

2.1 LAS 与百螺敌对泥鳅的单一急性毒性 以泥鳅为试验动物, 在接触 LAS 后, 高浓度组的泥鳅开始出现异常反应: 异常兴奋, 上下窜动, 四处冲撞, 跳跃, 狂游, 结果身体慢慢失去平衡, 先无力地漂浮于水面, 后大部分沉于水底, 而身体上出现弯曲, 腹部胀大, 鳃部及身体多处发生溶血现象。10 h 后高浓度组的泥鳅开始死亡。泥鳅死后, 身体倾斜, 体表有粘稠物。由表1 可知, 不同浓度的 LAS 对泥鳅有不同程度的毒性作用。质量浓度为 20.0 ng/L 时, 12 h 后出现死鱼, 48 h 后死亡率为 80%; 当最小质量浓度为 15.0 ng/L 时, 24 h 后未

出现死亡现象, 96 h 后达 50%。在百螺敌处理的试验中, 最高浓度组(百螺敌浓度为 2.0 ng/L) 的泥鳅会出现异常反应: 身体弯曲, 鳃部及身体多处发生溶血现象, 此现象与 LAS 中的泥鳅症状相似。而在死亡后发现, 体表轻微腐烂, 黏膜变白, 体色变淡, 尾巴下垂, 身体变软。百螺敌的试验结果表明, 百螺敌质量浓度为 2.0 ng/L 时, 3 h 后泥鳅出现不安反应, 5 h 后部分鱼侧卧水中不动, 9 h 后就出现死亡现象, 24 h 后死亡率达 100%; 质量浓度为 1.7 ng/L 时, 12 h 后出现死鱼, 48 h 后死亡率为 60%; 当最小质量浓度为 0.5 ng/L 时, 24 h 后基本未出现死亡现象, 96 h 后达 40%。空白对照组没有泥鳅死亡。由表1 还可知, 在 2 个染毒系列中, 各浓度组泥鳅死亡率从低浓度到高浓度逐渐增加, 呈现明显的规律性。根据 LAS 和百螺敌的死亡率利用 Karber 法进行数据处理, 计算出半致死浓度 LC_{50} 及安全浓度。通过计算, LAS 和百螺敌在 24、48、72、96 h 时, 半致死浓度 LC_{50} 分别为 22.470、20.408、19.364、18.698 ng/L 以及 1.425、1.215、0.938、0.800 ng/L, 安全浓度分别为 5.050、0.265 ng/L。同时也可以将 LAS 和百螺敌的安全浓度相比, 以安全浓度作为衡量标准, 两种试剂相比较, 对泥鳅的毒性百螺敌 > LAS。而且明显看出随着时间的增加, LC_{50} 的值反而随之减少。说明 LAS 或者百螺敌可以在体内积聚, 达到一定浓度后引起生物体死亡。周惜时等研究 LAS 对泥鳅单独作用 24、48、96 h 的 LC_{50} 分别为 15.43、13.87、12.94 ng/L; 该试验 LAS 的 24、48、72、96 h 的半致死浓度 LC_{50} 值稍微偏高一些, 可能与泥鳅的大小、个体差异、培养环境等因素都有关系^[5]。

表1 LAS 和百螺敌对泥鳅的单一毒性

Table 1 Single toxicity of LAS and ferfina acetate on *Misgurnus anguillicadatus*

污染物 Pollutant	浓度 ng/L Concentration	死亡率 % Mortality			
		24 h	48 h	72 h	96 h
LAS	0 (CK)	0	0	0	0
	15.0	0	20	20	50
	17.5	20	30	50	60
	20.0	50	80	80	80
	22.5	40	70	100	100
	25.0	80	90	100	100
	27.5	90	100	100	100
	30.0	100	100	100	100
	LC_{50}	22.470	20.408	19.364	18.698
	95% 可信限 95% confidence limit 安全浓度(SO) Safety concentration	21.343 ~ 23.654 5.050	19.420 ~ 21.450	18.590 ~ 20.174	17.760 ~ 19.690
百螺敌 Ferfina acetate	0 (CK)	0	0	0	0
	0.5	10	10	20	40
	0.8	0	30	50	80
	1.1	20	40	80	90
	1.4	40	60	80	100
	1.7	50	60	100	100
	2.0	100	100	100	100
	LC_{50}	1.425	1.215	0.938	0.800
	95% 可信限 95% confidence limit 安全浓度(SO) Safety concentration	1.282 ~ 1.585 0.265	1.073 ~ 1.377	0.844 ~ 1.043	0.734 ~ 0.872

根据鱼类毒性分级标准^[12], $LC_{50} < 1$ ng/L 为剧毒; 1 ~ 100 ng/L 为高毒; 100 ~ 1 000 ng/L 为中等毒性; 1 000 ~ 10 000 ng/L 为低毒; > 10 000 ng/L 为微毒或无毒。按照此标准, 百螺敌为剧毒级, LAS 为高毒级。

2.2 LAS 与百螺敌对泥鳅的联合毒性 用 LAS 和百螺敌共同处理后, 高浓度组的泥鳅开始出现异常反应, 游泳时平衡能力明显受到影响, 泥鳅盲目乱跳, 然后沉卧水底, 再仰卧,

出现侧翻。在死亡前期, 泥鳅急速上冲, 再缓慢下沉, 反复多次, 最后疲劳无力, 直至死亡。在溶液中, 泥鳅死后, 身体倾斜, 体表有粘稠物, 嘴微微张开, 泥鳅的鳃及体表出现许多棉絮状的白色颗粒。而将死亡的泥鳅鳍条张开, 所有鳍的基部及鳃丝均出现充血现象, 体表轻微腐烂, 黏膜变白, 体色变淡。在 2 种试剂联合毒性试验的基础上, 按质量浓度 1:1 进行配比, 进行了试验结果见表 2。然后利用(5) 式, 得出 LAS

和百螺敌联合作用对泥鳅的影响效果(表3)。试验数据显示 $A > 0$, 即可以看出 LAS 和百螺敌共存时诱变作用的活性大于其单存时诱变作用的活性, 其联合作用呈协同作用。随着时间的延长, 富集作用加剧, 协同作用加强。其原因可能是 LAS-百螺敌联合时, 由于 LAS 能引起细胞结构损伤, 增加其通透性; 而百螺敌在鱼体内的富集也能改变细胞膜的通透性, 所以两者共存时毒性大大增强, 表现为协同作用。

表2 LAS 和百螺敌联合作用时剂量的配比 ng/L

Table 2 Mixture ratio of the combined effect of LAS and fertin acetate

组别 Group	LAS	百螺敌 Fertin acetate
第1组 Group 1	7.50	0.25
第2组 Group 2	8.75	0.40
第3组 Group 3	10.00	0.55
第4组 Group 4	11.25	0.70
第5组 Group 5	12.50	0.85
第6组 Group 6	13.75	1.00
第7组 Group 7	15.00	1.15

3 结论与讨论

(1) 单一毒性试验中, 百螺敌对泥鳅为剧毒级, LAS 对泥鳅为高毒级。LAS 和百螺敌 96 h LC_{50} 分别为 18.698、0.800 ng/L。安全浓度分别为 5.050、0.265 ng/L。2 种污染物对泥鳅的急性毒性的差异, 可能是由于两者的化学结构不同所致。LAS 的致毒机理目前仍不是很明了, 程吕柏等认为, 由于 LAS 分子中具有疏水性的长碳氢链, 容易插入细胞膜的磷

脂双分子层, 引起膜结构损伤, 同时 LAS 中的苯磺酸根离子容易跟膜上的蛋白质结合, 改变蛋白质分子的构象或引起蛋白质变性, 使膜的通透性改变, 引起动物细胞的死亡^[13-14]。也有学者认为 LAS 能与鱼的鳃蛋白、皮肤蛋白结合成复合体造成鱼鳃机能破坏而死亡。而张云美等则认为, 鱼类十分容易通过体表和鳃吸收 LAS, 随着血液循环分布到体内各组织和器官, 鱼类经表面活性剂染毒后, 大多数的血清转氨酶和碱性磷酸酶活力均升高, 表明 LAS 对鱼类的胆囊和肝胰腺产生了不良影响, 损伤程度与其受毒时间成正比, 并且表面活性剂溶液存放一段时间后对鱼类的急性毒性作用无明显降低^[14]。试验中发现 LAS 对泥鳅的畸变影响很明显, 如脊柱弯曲, 身体萎缩变形, 鼻孔大张, 腹部胀大, 皮肤变得透明, 出现溶血现象等^[15], 这些畸变在不同程度上影响着泥鳅的生存, 致使泥鳅游泳时身体失去平衡, 不能游直线, 以及觅食困难, 使其很快死亡, 皮肤透明现象在 LAS 溶液中尤为明显, 有些甚至可以清晰看见其内脏器官, 这可能与 LAS 本身的漂白作用使其皮肤色素含量降低所致。百螺敌等有机锡农药对水生生物的毒性相当高。它的作用机理, 可以用黄辨非的试验结论解释, 通过对钠泵的干扰使神经膜动作电位的去极化期延长, 周围神经出现重复电位, 造成肌肉的持续收缩, 增强脊髓中间神经元和周围神经的兴奋性^[16]。泥鳅在百螺敌溶液中表现出来的抽搐、仰泳、上窜及死后身体扭曲是神经性中毒的症状。

表3 LAS 和百螺敌联合作用对泥鳅死亡效应的影响

Table 3 The combined effect of LAS and fertin acetate on the death ratio of *Msgrnus anguillicadatus*

暴露时间 h Exposure time	LC_{50} ng/L		A	作用 Action
	LAS	百螺敌 Fertin acetate		
24	12.040(11.410~12.767)	0.518(0.439~0.609)	0.113	协同作用 Synergistic
48	10.602(9.958~11.289)	0.354(0.293~0.427)	0.235	协同作用 Synergistic
72	9.445(8.847~10.080)	0.250(0.208~0.304)	0.231	协同作用 Synergistic
96	8.610(8.134~9.114)	0.199(0.160~0.227)	0.521	协同作用 Synergistic

(2) LAS 和百螺敌的联合作用的急性毒性试验中, 24、48、72 和 96 h 的 A 分别为 0.113、0.235、0.231 和 0.521, 均大于 0, 表现出协同作用, 并且随着时间的延长, 协同作用逐渐加强。共存会对泥鳅产生更强的毒性作用。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。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。一般认为, 物质的毒性与它的亲和力有关, 亲和力越强, 对有机体的毒性就越大^[17]。毒性物质对生物体的影响还与生物体的种类、生物体不同的发育状态、不同的试验条件(比如试验温度、水质状况等)等因素有关^[18], 因此, 有关泥鳅对 LAS 和百螺敌的敏感性不同的机理问题还有待于作进一步研究。

参考文献

[1] 王学川, 邱白玉. 表面活性剂的毒性问题[J]. 日用化学品科学, 2005, 28(6): 22-26.
 [2] 蔡明春. 百螺敌防治福寿螺效果研究[J]. 湖南农药, 2007(2): 15.
 [3] 林华兵, 宋志慧, 王方方. 三苯基锡对羽摇蚊幼虫、小锥实螺、颤蚓的毒性[J]. 青岛科技大学学报: 自然科学版, 2007, 28(5): 386-393.
 [4] 应启锋, 肖昌松, 纪树兰, 等. 直链烷基苯磺酸盐(LAS)的生物降解性[J]. 微生物学通报, 2002, 29(5): 85-88.

[5] 周惜时, 廖柏寒, 秦普丰, 等. 表面活性剂与重金属对泥鳅的联合毒性研究[J]. 湖南农业大学资源与环境学院学报, 2006, 26(2): 86-88.
 [6] EVA M. Adverse effects of dphenyltin dichloride on initiation and maintenance of pregnancy in rats[J]. Toxicol Lett, 1999, 108(1): 17-25.
 [7] 孙红文, 黄国兰, 乔峰, 等. 三苯基锡和三丁基锡对大型蚤的毒性作用研究[J]. 环境化学, 2000, 19(3): 235-239.
 [8] 宋志慧, 陈天乙, 马维琦. 有机锡化合物对萝卜螺的毒性作用[J]. 环境科学, 1997(18): 83-84.
 [9] 吴若菁, 陈奋飞, 庄捷, 等. SO_2 的衍生物对泥鳅的急性毒性和染色体损伤研究[J]. 水生生物学报, 2007, 31(4): 585-589.
 [10] 邱郁春. 水污染鱼类毒性试验方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1992.
 [11] 卜艳珍, 杨利晓. 4 种重金属对金鱼幼鱼的急性毒性研究[J]. 水利渔业, 2007, 27(1): 84-85.
 [12] 周启星, 孔繁翔, 朱琳. 生态毒理学[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 353-397.
 [13] 程吕柏, 胡家振, 姚蒙正, 等. 精细华工产品的合成及应用[M]. 2 版. 大连: 大连理工大学出版社, 1992.
 [14] 张云美, 潘永全, 韩志刚, 等. 家用洗涤剂对红剑鱼、孔雀鱼和食蚊鱼的急性毒性试验观察[J]. 四川动物, 2005, 24(2): 213-215.
 [15] 杨广, 刘金科, 邓长双. 两种消毒药物对泥鳅的毒性研究[J]. 淡水渔业, 2000, 30(9): 39-41.
 [16] 黄辨非. 甲氰菊酯对泥鳅的急性毒性试验[J]. 淡水渔业, 1998, 28(5): 20-22.
 [17] 刘清, 马梅, 童中华, 等. Cu, Zn, Cd, Hg 对新型淡水发光菌的联合毒性[J]. 中国环境科学, 1997, 17(4): 301-303.
 [18] 隋国斌, 杨凤, 孙呷海, 等. Pb, Hg 和 Cd 对皱纹盘鲍生殖周期的急性毒性研究[J]. 大连水产学院学报, 1994, 14(1): 22-26.