

· 研究论文 ·

DOI: 10.16801/j.issn.1008-7303.2017.0091

农药和重金属复合污染物对大型溞的毒性效应

吴慧明¹, 陈颖¹, 胡婷婷¹, 顾丹璐¹, 王蒙岑², 饶琼¹, 刘训悦^{*1}

(1. 浙江农林大学 农业与食品学院, 浙江 临安 311300; 2. 浙江大学 农药与环境毒理研究所, 杭州 310029)

摘要: 农药和重金属作为水环境中两类常见的污染物, 其复合污染已经对水体生态和人类生存环境构成严重威胁。作者研究了 3 种常用农药 (毒死蜱、三唑磷、氟虫腈) 及 2 种常见重金属 (铅、镉) 对大型溞的急性毒性, 同时采用五因素五水平二次通用旋转组合设计方案, 研究了复合污染体系对大型溞的联合毒性效应。结果表明: 毒死蜱、三唑磷、氟虫腈、铅离子和镉离子对大型溞的 48 h-EC₅₀ 值分别为 6.30、7.27、2.17、454.97 和 1 175.74 $\mu\text{g/L}$; 5 种污染物对大型溞的毒性效应贡献值依次为镉离子 > 三唑磷 > 氟虫腈 > 毒死蜱 > 铅离子; 复合污染物对大型溞的毒性呈现出一定的相加效应; 当水中毒死蜱质量浓度为 0.81 $\mu\text{g/L}$ 、三唑磷为 17.22 $\mu\text{g/L}$ 、氟虫腈为 5.65 $\mu\text{g/L}$ 、铅离子为 83.75 $\mu\text{g/L}$ 、镉离子为 3 793.15 $\mu\text{g/L}$ 时, 复合污染物毒性的理论协同效应最大。研究结果可为复合污染物风险评估提供参考。

关键词: 大型溞; 毒死蜱; 三唑磷; 氟虫腈; 重金属; 复合污染物; 联合毒性; 二次通用旋转组合设计

中图分类号: S481.8; X171.5 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2017)06-0716-07

Combined toxicity of pesticide and heavy metal to *Daphnia magna*

WU Huiming¹, CHEN Ying¹, HU Tingting¹, GU Danlu¹, WANG Mengcen²,
RAO Qiong¹, LIU Xunyue^{*1}

(1. College of Agriculture & Food Science, Zhejiang Agriculture & Forestry University, Lin'an 311300, Zhejiang Province, China;
2. Institute of Pesticide and Environmental Toxicology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: Pesticides and heavy metals are two common types of pollutants in aquatic environment. The combined pollution is noteworthy because they posed a serious threat to aqua ecology and living environment for human. Herein, the acute toxicities of 3 common pesticides (chlorpyrifos, triazophos and fipronil) and 2 common heavy metals (Pb and Cd) to *Daphnia magna* were evaluated. Their combined toxicities were also studied using five-factor quadratic general rotary unitized design. The 48 h-EC₅₀ values of chlorpyrifos, triazophos, fipronil, Pb²⁺ and Cd²⁺ to *D. magna* were 6.30, 7.27, 2.17, 454.91 and 1 175.74 $\mu\text{g/L}$, respectively. The contribution of these five pollutions to combined toxicological effects following the order: Cd²⁺ > triazophos > fipronil > chlorpyrifos > Pb²⁺. Combined effects of five pollutants was observed on the survival of *D. magna*. Moreover, the maximum theoretical synergy appears when chlorpyrifos was 0.811 $\mu\text{g/L}$, triazophos concentration was 17.22 $\mu\text{g/L}$, fipronil

收稿日期: 2017-05-07; 录用日期: 2017-11-19.

基金项目: 浙江省自然科学基金 (LY15B070008); 浙江农林大学科研发展基金 (2015FR013); 国家级大学生创新创业训练计划 (201610341008); 浙江农林大学学生科研训练项目 (113-2013200004).

作者简介: 吴慧明, 男, 博士, 副教授, 主要从事农药毒理学研究, E-mail: wuhm@zafu.edu.cn; *刘训悦, 通信作者 (Author for correspondence), 女, 博士, 讲师, 主要从事农药残留和生态风险研究, E-mail: lxyue1027.com@163.com

was 5.65 $\mu\text{g/L}$, Pb^{2+} was 83.75 $\mu\text{g/L}$ and Cd^{2+} was 3 793.15 $\mu\text{g/L}$. The data of this study can provide support for the risk assessment of composite pollutants.

Keywords: *Daphnia magna*; chlorpyrifos; triazophos; fipronil; heavy metal; composite pollutants; combined toxicity; quadratic general rotary unitized design

随着工农业生产的迅速发展, 目前水体污染现象已普遍存在, 其中化学农药和重金属污染问题尤为突出, 河流、湖泊、池塘和沟渠等水系已成为除农田土壤以外蓄积量最大的污染物聚集地。受污染的农田水系不仅会直接造成水生生物中毒及水产养殖灾害, 而且易引起二次污染, 对作物生产、生态平衡和人体健康形成威胁。

目前关于单一污染物污染效应的研究较多^[1-3]。然而, 在实际生态系统中存在的大多是由多种污染物共同作用而形成的复合污染效应, 存在着协同、拮抗、相加等多种方式的相互作用^[4]。多种污染物共存并产生不同程度的污染和危害已成事实, 多元复合污染物对环境非靶标生物的联合污染效应有别于单因子的生物效应也已在众多研究中得到证实^[5]。Heindel 等^[6]通过模拟方法研究了美国 California 和 Iowa 两州地下水体中农药-化肥复合污染物的构成及其对小鼠发育与繁殖的影响, 以期估测其对人体健康的可能影响。Forget 等^[7]研究了重金属砷 (As)、镉 (Cd) 与克百威、敌敌畏和马拉硫磷共存时对多种水生生物死亡率的影响。然而, 目前有关农田水系中重金属镉、铅与农药共存条件下对水生生物的复合污染效应仍鲜见报道。而大型溞 *Daphnia magna* 因对环境变化敏感性高、繁殖周期短和易培养等特点而被广泛应用于水生生态毒性的研究中^[8-9]。基于此, 本研究选取 3 种生产中常用的典型农药毒死蜱、三唑磷、氟虫腈以及常见重金属元素铅和镉, 重点研究了其复合污染物对大型溞的联合毒性效应, 以期揭示生态系中复合污染物-生物体之间的内在联系与规律, 为开展生态环境污染研究、发展无公害及有机农业提供数据支持, 同时为复合污染物的水环境生态风险性评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验生物

大型溞 *Daphnia magna* 为浙江大学农药与环境毒理研究所引种的 62 D. M 纯品系生物株。饲养密度为每 50 mL 曝气水 (微粒体 < 20 mg/L, 总

有机碳 < 2 mg/L, 未解离氨 < 1 $\mu\text{g/L}$, 残留氯 < 10 $\mu\text{g/L}$, 总有机氯 < 25 ng/L) 中饲养 1 只母溞。每 2 天换 1 次培养液, 每天喂食栅藻 *Scenedesmus subspicatus*, 投饵密度为 $2.0 \times 10^5 \sim 3.0 \times 10^5$ cells/mL, 每天监测栅藻的密度。挑选出生 6~24 h 的幼溞进行毒性试验, 其对药剂的敏感性测定符合 ISO 标准^[10]。

1.2 药剂及主要仪器

99.98% 毒死蜱 (chlorpyrifos) 原药 (钱江化学股份有限公司); 99.00% 三唑磷 (triazophos) 原药 (浙江新农化工股份有限公司); 99.50% 氟虫腈 (fipronil) 原药 (拜耳作物科学公司); $\text{Pb}(\text{WO}_3)_2$ 、 $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 等均购于华东医药有限公司。

Sartorius 1700 电子分析天平 (精确到 0.1 mg, 梅特勒-托利多国际有限公司); PHS-2F pH 计 (上海仪电科学仪器股份有限公司); LRH-150-G 型光照培养箱 (广州沪瑞明仪器有限公司); SJG-203A 型溶解氧分析仪 (上海仪电科学仪器股份有限公司); SW-CJ-1F 无菌操作台 (江苏苏净集团有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 单一因子急性毒性测定 急性毒性试验参考 OECD-202 (2012)^[11]进行。将 5 只幼溞放入盛有 50 mL 曝气水的烧杯中, 添加不同浓度单一污染物进行染毒, 每个处理重复 4 次。培养过程中保持水温为 $(21 \pm 1)^\circ\text{C}$, 光照/黑暗 = 16 h/8 h, 试验期间不投放饵料, 不更换试验溶液, 48 h 后观察试溞存活状况并记录结果。采用 DPS 系统^[12]中的生物测定剂量效应法计算每种药物的 48 h- EC_{50} 和 48 h- EC_{25} 值。

1.3.2 多因子急性毒性测定 将 3 种药剂及 2 种重金属化合物制成复合污染物, 采用五因素五水平二次通用旋转组合设计法^[13], 结合单因子急性毒性测定结果设定不同浓度, 分别于 12、24、36、48 及 60 h 观察记录无游动能力试溞数。

1.4 数据处理

采用 DPS 软件统计试验结果, 并分析供试农药和重金属对大型溞的急性毒性联合效应, 建立回归模型。

2 结果与讨论

2.1 单一因子急性毒性效应

通过 DPS 统计软件中生物测定剂量效应法求得各因子的 48 h-EC₅₀ 和 48 h-EC₂₅ 值 (表 1)。结果表明: 大型蚤对氟虫腈最敏感, 对镉则表现出了一定的耐受力, 5 种污染物对大型蚤的单一急性毒性由大到小依次为: 氟虫腈 > 毒死蜱 > 三唑磷 > 铅离子 > 镉离子。王增焕等^[14]于 2003 年在测定中国江河口岸水生生物的重金属含量时, 发现皮氏

叫姑鱼 *Johnius belangerii* 体内镉离子和铅离子的含量分别为 10 和 20 μg/kg, 而虾体内镉离子和铅离子含量分别为 180 和 50 μg/kg; 丁跃平等^[15]测得三唑磷对成体脊尾白虾的 48 h-LC₅₀ 值为 8.9 μg/L; 金彩杏等^[16]测得三唑磷对鲈鱼的 48 h-LC₅₀ 值为 13 μg/L。根据《化学农药环境安全评价试验准则》(GBT 31270.1-2014) 中有关污染物对水生生物 (斑马鱼和蚤) 毒性的分级标准^[17], 本研究中的 5 种污染物对鱼和甲壳类生物的毒性效应均不可忽视。

表 1 五种污染物对大型蚤的急性毒性

Table 1 The acute toxicity of five selected pollutants to *D. magna*

污染物 Pollutant	回归方程 Regression equation	<i>R</i> ²	<i>n</i>	EC ₂₅ /(μg/L)	EC ₅₀ /(μg/L)
毒死蜱 chlorpyrifos	<i>y</i> = 2.341 <i>x</i> + 3.129	0.996	4	3.25	6.30
三唑磷 triazophos	<i>y</i> = 2.958 <i>x</i> + 2.451	0.988	4	4.30	7.27
氟虫腈 fipronil	<i>y</i> = 3.626 <i>x</i> + 3.781	0.970	4	1.41	2.17
铅离子 Pb ²⁺	<i>y</i> = 5.061 <i>x</i> - 8.451	0.981	4	334.71	454.91
镉离子 Cd ²⁺	<i>y</i> = 7.253 <i>x</i> - 17.271	0.968	4	949.14	1 175.74

2.2 多因子急性毒性效应

2.2.1 多因子毒性试验设计 根据单因子试验结果, 以每种药物的 EC₂₅ 值为变量中值 0 水平, lg2 为步长, 设置变量水平 -2、-1、0、1、2, 通过 DPS 系统得到 32 个处理浓度 (表 2)。

2.2.2 多因子试验结果 表 2 的 32 组浓度处理中, 无游动能力蚤数总体上随着时间的延长而增加, 但除了编号为 2、3、17、19 以及 27~32 的处理组外, 其余各处理组大型蚤活动受抑制数均在 24 h 后即趋于稳定, 几率值变化不大。表 3 为多因子染毒 48 h 试验结果, 利用 DPS 软件对其进行二次通用旋转组合统计分析, 建立数学回归模型。

2.2.3 数学模型的建立与检验 根据二次通用旋转组合回归分析得到回归方程模型, 五因素五水平之间的相互关系见式 (1)。

$$y = 5.551\ 2 + 0.472\ 4x_1 + 0.668\ 8x_2 + 0.632\ 9x_3 + 0.099\ 6x_4 + 2.416\ 2x_5 + 0.039\ 8x_1^2 + 0.036\ 6x_2^2 + 0.303\ 4x_3^2 + 0.511\ 8x_4^2 - 0.181\ 6x_5^2 + 0.161\ 4x_1x_2 + 0.368\ 0x_1x_3 - 0.223\ 5x_1x_4 - 1.051\ 8x_1x_5 - 0.309\ 6x_2x_3 + 0.165\ 1x_2x_4 - 0.283\ 3x_2x_5 + 0.371\ 7x_3x_4 + 0.165\ 1x_3x_5 - 0.309\ 6x_4x_5$$

(1)

计算该回归方程中各项偏差的平方和, 进行失拟性 *F* 检验和回归方程的显著性分析。结果表明: 失拟项显著性 *F*₁ < *F*_{*a*} (*a* = 0.05), 表明失拟项

在 0.05 水平不显著, 可用统计量 *F*₂ 对模型做进一步检验; 回归方程显著性 *F*₂ > *F*_{*a*} (*a* = 0.01), 表明回归方程在 0.01 水平显著, 即试验数据与所采用的二次数学模型显著符合, 二次回归方程与实际情况拟合较好, 将方程 (1) 进一步优化, 即可反映农药和重金属之间的复合污染效应。

偏回归系数方差分析表明, 比值 *F* 小于显著性水平 *P* 的均为非显著项, 剔除偏回归系数未达到显著水平 (*a* = 0.10) 的项, 简化后的回归方程模型见式 (2)。

$$y = 5.551\ 2 + 0.472\ 4x_1 + 0.668\ 8x_2 + 0.632\ 9x_3 + 2.416\ 2x_5 + 0.511\ 8x_4^2 - 1.051\ 8x_1x_5$$

(2)

2.2.4 模型解析

2.2.4.1 因子主效应分析 模型 (1) 和 (2) 中的各因素 (*x_j*) 均经过了无量纲线形变换, 其偏回归系数已经标准化。因此, 可从其绝对值大小顺序直接判断出各药物对大型蚤毒性作用的影响程度, 模型 (1) 中的一次项顺序为 *x*₅ > *x*₂ > *x*₃ > *x*₁ > *x*₄, 二次项顺序为 *x*₄ > *x*₃ > *x*₅ > *x*₁ > *x*₂。因在偏回归系数方差分析检验中, 一次项只有 *x*₄ 未达到显著或极显著水平, 而二次项中只有 *x*₄ 的系数达到极显著水平, 故主效应因子的大小顺序为 *x*₅ > *x*₂ > *x*₃ > *x*₁ > *x*₄。即在本试验中, 5 种污染物共存的情况下, 其对大型蚤毒性影响的顺序依次为: 镉离子 (*x*₅) > 三唑磷 (*x*₂) > 氟虫腈 (*x*₃) > 毒死蜱 (*x*₁) > 铅

表 2 五因素五水平二次通用旋转组合设计方案

Table 2 Five factors with five levels quadratic ratation combitination general design

编号 No.	因子编码值 Factor coding value					毒死蜱 chlorpyrifos	三唑磷 triazophos	氟虫腈 fipronil	铅离子 Pb ²⁺	镉离子 Cd ²⁺
	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅
1	1	1	1	1	1	0.812	0.935	0.451	2.826	3.278
2	1	1	1	-1	-1	0.812	0.935	0.451	2.224	2.676
3	1	1	-1	1	-1	0.812	0.935	-0.151	2.826	2.676
4	1	1	-1	-1	1	0.812	0.935	-0.151	2.224	3.278
5	1	-1	1	1	-1	0.812	0.333	0.451	2.826	2.676
6	1	-1	1	-1	1	0.812	0.333	0.451	2.224	3.278
7	1	-1	-1	1	1	0.812	0.333	-0.151	2.826	3.278
8	1	-1	-1	-1	-1	0.812	0.333	-0.151	2.224	2.676
9	-1	1	1	1	-1	0.210	0.935	0.451	2.826	2.676
10	-1	1	1	-1	1	0.210	0.935	0.451	2.224	3.278
11	-1	1	-1	1	1	0.210	0.935	-0.151	2.826	3.278
12	-1	1	-1	-1	-1	0.210	0.935	-0.151	2.224	2.676
13	-1	-1	1	1	1	0.210	0.333	0.451	2.826	3.278
14	-1	-1	1	-1	-1	0.210	0.333	0.451	2.224	2.676
15	-1	-1	-1	1	-1	0.210	0.333	-0.151	2.826	2.676
16	-1	-1	-1	-1	1	0.210	0.333	-0.151	2.224	3.278
17	-2	0	0	0	0	-0.091	0.634	0.150	2.525	2.977
18	2	0	0	0	0	1.113	0.634	0.150	2.525	2.977
19	0	-2	0	0	0	0.511	0.032	0.150	2.525	2.977
20	0	2	0	0	0	0.511	1.236	0.150	2.525	2.977
21	0	0	-2	0	0	0.511	0.634	-0.452	2.525	2.977
22	0	0	2	0	0	0.511	0.634	0.752	2.525	2.977
23	0	0	0	-2	0	0.511	0.634	0.150	1.923	2.977
24	0	0	0	2	0	0.511	0.634	0.150	3.127	2.977
25	0	0	0	0	-2	0.511	0.634	0.150	2.525	2.375
26	0	0	0	0	2	0.511	0.634	0.150	2.525	3.579
27	0	0	0	0	0	0.511	0.634	0.150	2.525	2.977
28	0	0	0	0	0	0.511	0.634	0.150	2.525	2.977
29	0	0	0	0	0	0.511	0.634	0.150	2.525	2.977
30	0	0	0	0	0	0.511	0.634	0.150	2.525	2.977
31	0	0	0	0	0	0.511	0.634	0.150	2.525	2.977
32	0	0	0	0	0	0.511	0.634	0.150	2.525	2.977

离子 (x4)。也就是说，5 种成分复合污染物对大型溞的急性毒性效应中，镉离子的效应贡献值最大，铅离子的贡献值最小。已有研究发现，一般水生生物体内的铅主要以不溶性分子态积累在骨骼中^[8]，这可能导致铅对水生生物的急性毒性效应不明显。此外，模型中各个单因子 (x_j) 与 y 的关系均呈正相关，表明随 5 种污染物浓度的增加，复合污染物对大型溞的急性毒性也相应增大。

2.2.4.2 单因子效应分析 为探讨单一因子对复合污染物毒性效应的影响，采用“降维法”将其他

4 个变量固定取 0 水平，代入模型 (2)，观察该自变量与毒性效应 (y) 的关系，据此导出 5 个一元降维偏回归模型，即回归模型 (3)。

$$\begin{aligned} y_1 &= 5.551\,2 + 0.472\,4x_1 \text{ (毒死蜱)} \\ y_2 &= 5.551\,2 + 0.668\,8x_2 \text{ (三唑磷)} \\ y_3 &= 5.551\,2 + 0.632\,9x_3 \text{ (氟虫腈)} \\ y_4 &= 5.551\,2 + 0.511\,8x_4^2 \text{ (铅离子)} \\ y_5 &= 5.551\,2 + 2.416\,2x_5 \text{ (镉离子)} \end{aligned} \tag{3}$$

图 1 为以 5 种污染物的单因子效应为横坐标、编码值为纵坐标的单因子效应分析图。从中

表 3 多因子处理 48 h 急性毒性

Table 3 48 h acute toxicity of multi factors treatments			
编号 No.	试蚤总数/头 Amount of <i>D. magna</i> /units	被抑制试蚤数/头 Inhibitory number of <i>D. magna</i> /units	几率值 <i>P</i> value
1	20	20	9.265
2	21	19	6.309
3	20	16	5.842
4	23	23	9.265
5	20	9	4.874
6	20	20	9.265
7	20	10	5.000
8	20	2	3.718
9	20	1	3.355
10	20	20	9.265
11	20	20	9.265
12	20	1	3.355
13	20	20	9.265
14	20	0	0.735
15	20	0	0.735
16	20	20	9.265
17	20	11	5.126
18	20	19	6.645
19	20	11	5.126
20	19	18	6.620
21	20	7	4.615
22	20	20	9.265
23	20	18	6.282
24	20	20	9.265
25	20	0	0.735
26	20	20	9.265
27	20	19	6.644
28	21	19	6.309
29	21	16	5.712
30	20	8	4.747
31	20	13	5.385
32	20	4	4.185

可见，除 y_4 外，其余 4 项因子的编码水平值跟毒性效应值均呈线性相关，即随着编码水平值 (污染物浓度) 的增大，毒性效应也随之增大。其中 y_5 的斜率最大， y_2 和 y_3 基本一致， y_1 斜率最小。复合污染物中， y_4 为上开口的抛物线，其最小值为编码水平值 0，即浓度值为 EC_{25} 值，说明 y_4 对毒性效应的贡献较少。 y_5 (镉离子) 对毒性效应的贡献值最大，其次是 y_2 (三唑磷)、 y_3 (氟虫腈)、 y_1 (毒死蜱) 和 y_4 (铅离子)。此分析结果和主因子效应分析结果相吻合。

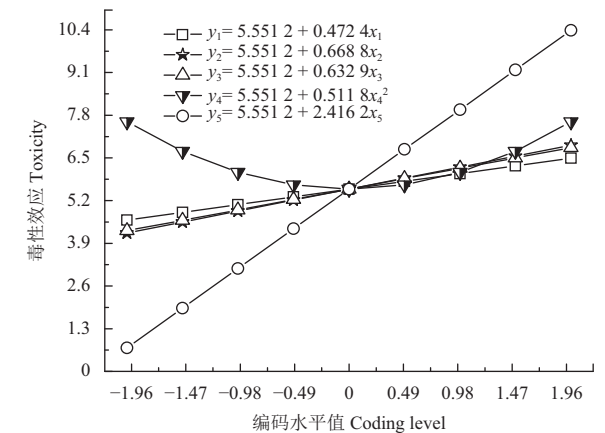


图 1 单因子效应分析

Fig. 1 Single factor effect analysis

2.2.4.3 多因子交互作用分析 通过对模型 (2) 的分析发现， x_1 和 x_5 的互作达到极显著水平 (表 4)，表明农药和重金属对大型蚤的联合毒性并非各因子单独效应的简单相加，同时还存在着各因子之间的互作效应。将模型 (2) 中其他 3 个因子固定在 0 水平，即得到 2 个因子在 0 水平上的互作效应回归子模型 (4)。

$$y=5.5512+0.4724x_1+2.4162x_5-1.0518x_1x_5 \quad (4)$$

在试验范围内，除去效应值小于 3 和大于 10 (死亡率不到 0% 或超过 100%) 的数，其毒性效应的最大值为 9.728 1，接近 100% 死亡率，此时 x_5 的编码值为 1.5， x_1 的编码值为 -0.5，即低浓度 (2.29 μg/L) 的毒死蜱和高浓度 (2 682.25 μg/L) 的镉离子共存时毒性增大。横向看表 4，当 x_1 水平固定时，随着 x_5 编码值的增大 (污染物浓度增加)，毒性效应逐渐增大，尤其在 x_1 为低浓度水平时增大效应格外突出。

对其他多因子交互作用的分析表明，两两互作时毒性效应最大值即两因子编码水平为 2 时，无论横向还是竖向排列，毒性效应均随着编码值的增大 (即污染物浓度的增加) 而增大。由于互作效应未达到显著水平，因此无法确定各因素之间的作用是相加、协同还是增效，需要进一步验证。

2.2.4.4 模型的最优解 在步长为“1”的 $-2 \leq x_j \leq 2$ 区间内进行优化模式计算机处理，得到本试验条件下农药及重金属对大型蚤复合污染的理论协同效应最大值为 18.3 μg/L，此时因子编码值为 $x_1 = -2$ 、 $x_2 = 2$ 、 $x_3 = 2$ 、 $x_4 = -2$ 、 $x_5 = 2$ ，根据公式 $x_j \times \lg 2 = \lg N_j - \lg N_0$ 计算得各因子质量浓度分别为 x_1 (毒死蜱) 为 0.81 μg/L、 x_2 (三唑磷) 为

表 4 毒死蜱 (x_1) 和镉离子 (x_5) 的交互效应值

Table 4 The interaction between chlorpyrifos (x_1) and Cd^{2+} (x_5)

毒性效应值 Toxicity level		镉离子 Cd^{2+} (x_5)								
		-2	-1.5	-1	-0.5	0	0.5	1	1.5	2
毒死蜱 chlorpyrifos (x_1)	2	5.870	6.027	6.183	6.340	6.496	6.652	6.809	6.965	7.121
	1.5	4.582	5.002	5.421	5.840	6.260	6.679	7.098	7.517	7.937
	1	3.295	3.977	4.659	5.341	6.024	6.706	7.388	8.070	8.753
	0.5	2.007	2.952	3.897	4.842	5.787	6.733	7.678	8.623	9.568
	0	0.719	1.927	3.135	4.343	5.551	6.759	7.967	9.176	10.384
	-0.5	-0.569	0.902	2.373	3.844	5.315	6.786	8.257	9.728	11.199
	-1	-1.857	-0.123	1.611	3.345	5.079	6.813	8.547	10.281	12.015
	-1.5	-3.145	-1.148	0.849	2.846	4.843	6.840	8.837	10.833	12.830
	-2	-4.433	-2.173	0.087	2.347	4.606	6.866	9.126	11.386	13.646

17.22 $\mu\text{g/L}$ 、 x_3 (氟虫腈) 为 5.65 $\mu\text{g/L}$ 、 x_4 (铅离子) 为 83.75 $\mu\text{g/L}$ 及 x_5 (镉离子) 为 3 793.15 $\mu\text{g/L}$, 即在此条件下复合污染物毒性的理论协同效应最大。

根据上述模型, 预测并统计大型溞受复合污染物影响时, 抑制率大于 50% (即几率值 > 5.0) 的 2 156 个因子编码方案, 各方案中不同因子的频率分布如表 5 所示。结果表明, 铅离子在低浓度 (即编码值小于 0) 时, 随着其浓度增加, 对大型溞的抑制率反而下降, 而其他 4 种化合物随浓度增加对大型溞的抑制率均呈线性上升。表明当有其他 4 种污染物共存时, 在一定浓度水平内, 铅离子对大型溞的行为反而有一定的促进作用。

表 5 2 156 个方案中各变量取值的频率分布			
Table 5 Factors frequency distributing of 2 156 schemes			
编码因子 Code factor	加权平均数 Weighted average	标准误差 Standard error	95%分布区间 95% Distribution interval
x_1	0.303	0.031	0.243~0.363
x_2	0.144	0.030	0.085~0.203
x_3	0.144	0.030	0.085~0.203
x_4	0	0.032	-0.062~0.062
x_5	0.605	0.036	0.554~0.657

3 结论

急性毒性试验结果表明, 当污染物在水中单独存在时, 毒死蜱、三唑磷和氟虫腈对大型溞的 48 h- EC_{50} 值均小于 10 $\mu\text{g/L}$, 属于剧毒类污染物; 而铅离子对大型溞具有高等毒性效应 (48 h- EC_{50} 值为 454.91 $\mu\text{g/L}$), 镉离子的毒性属于中等 (48 h- EC_{50} 值为 1 175.74 $\mu\text{g/L}$)。当多种污染物共存时, 镉离子浓度对 5 种污染物的复合毒性效应影响最大;

在一定浓度范围内, 铅离子对大型溞反而表现出一定的刺激作用。

对回归模型进行失拟性 F 检验和回归方程显著性分析, 结果显示, 所采用的二次数学模型与实际情况拟合度较好, 可对方程做进一步的解析。5 种污染物共存时, 对大型溞毒性影响的顺序依次为: 镉离子 > 三唑磷 > 氟虫腈 > 毒死蜱 > 铅离子。依据优化后的方程计算可得: 水溶液中毒死蜱为 0.81 $\mu\text{g/L}$ 、三唑磷为 17.22 $\mu\text{g/L}$ 、氟虫腈为 5.65 $\mu\text{g/L}$ 、铅离子为 83.75 $\mu\text{g/L}$ 及镉离子为 3 793.15 $\mu\text{g/L}$ 时, 复合污染物毒性的理论协同效应最大。其中, 毒死蜱和镉离子的互作效应极显著, 但其他污染物间的互作效应未达到显著水平。试验结果显示: 多因素多水平二次通用旋转组合设计试验所得回归方程可用于初步评价多种污染物共存时对大型溞的协同作用; 对已知浓度的多种污染物, 利用回归方程可快速评价复合污染物对大型溞存在的协同风险。

参考文献 (Reference):

[1] 朱昱璇, 姜锦林, 单正军, 等. 抑食肼对大型溞的急性慢性毒性效应研究[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(12): 2309-2314.
ZHU Y X, JIANG J L, SHAN Z J, et al. Acute and chronic toxicity of RH-5849 to *Daphnia magna*[J]. J Agro-Environ Sci, 2014, 33(12): 2309-2314.

[2] KIENLE C, KÖHLER H R, GERHARDT A. Behavioural and developmental toxicity of chlorpyrifos and nickel chloride to zebrafish (*Danio rerio*) embryos and larvae[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2009, 72(6): 1740-1747.

[3] WOLLENBERGER L, HALLING-SØRENSEN B, KUSK K O. Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia*

magna[J]. Chemosphere, 2000, 40(7): 723-730.

[4] 陈晨, 钱永忠. 农药残留混合污染联合效应风险评估研究进展[J]. 农产品质量与安全, 2015(5): 49-53.

CHEN C, QIAN Y Z. Pesticide residues mixed pollution risk assessment of the effect of joint development[J]. Qual Saf Agro-Prod, 2015(5): 49-53.

[5] OTITOLOJU A A. Evaluation of the joint-action toxicity of binary mixtures of heavy metals against the mangrove periwinkle *Tympanotonus fuscatus* var *radula* (L.)[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2002, 53(3): 404-415.

[6] HEINDEL J J, CHAPIN R E, GULATI D K, et al. Assessment of the reproductive and developmental toxicity of pesticide/fertilizer mixtures based on confirmed pesticide contamination in California and Iowa groundwater[J]. Fundam Appl Toxicol, 1994, 22(4): 605-621.

[7] FORGET J, PAVILLON J F, MENASRIA M R, et al. Mortality and LC₅₀ values for several stages of the marine copepod *Tigriopus brevicornis* (Müller) exposed to the metals arsenic and cadmium and the pesticides atrazine, carbofuran, dichlorvos, and malathion[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 1998, 40(3): 239-244.

[8] 罗特 B, 张甬元. 试验用大型溞 (*Daphnia magna*) 的培养方法[J]. 环境科学, 1987, 8(3): 28-30.

RORT B, ZHANG Y Y. Culture method of *Daphnia magna* for experiment[J]. Environ Sci, 1987, 8(3): 28-30.

[9] MÜNZINGER A, MONICELLI F. Heavy metal co-tolerance in a chromium tolerant strain of *Daphnia magna*[J]. Aquat Toxicol, 1992, 23(3-4): 203-216.

[10] 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性试验方法[M]. 北京: 农业出版社, 1989: 157-169.

ZHOU Y X, ZHANG Z S. Toxicity of aquatic organisms manual[M]. Beijing: Agriculture Press, 1989: 157-169.

[11] WILHELM K P, MAIBACH H I. OECD guidelines for the testing of chemicals[R]. No.202, 2012.

[12] 唐启义. DPS 数据处理系统: 实验设计、统计分析及数据挖掘[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2010.

TANG Q Y. DPS data processing system: experimental design, statistical analysis and data mining[M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2010.

[13] 丁希泉. 农业应用回归设计[M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 1986.

DING X Q. Regression design of agricultural application[M]. Changchun: Jilin Science and Technology Press, 1986.

[14] 王增焕, 林钦, 李纯厚, 等. 珠江口表层沉积物铜铅锌镉的分布与评价[J]. 环境科学研究, 2004, 17(4): 5-9.

WANG Z H, LIN Q, LI C H, et al. The concentration distribution and assessment of Cu, Pb, Zn and Cd in surface sediments from Pearl River Estuary[J]. Res Environ Sci, 2004, 17(4): 5-9.

[15] 丁跃平, 金彩杏, 郭远明, 等. 三唑磷对海水虾类、蟹类的急性毒性试验[J]. 浙江海洋学院学报 (自然科学版), 2002, 21(2): 116-118.

DING Y P, JIN C X, GUO Y M, et al. The acute effect of triazophos on prawn and crab[J]. J Zhejiang Ocean Univ (Nat Sci), 2002, 21(2): 116-118.

[16] 金彩杏, 丁跃平, 刘士忠, 等. 三唑磷农药对鲈鱼等鱼类的急性毒性试验[J]. 水产科技情报, 2002, 29(4): 156-158.

JIN C X, DING Y P, LIU S Z, et al. Acute toxicity tests of perch and other fishes by using pesticide of phosphorous triazole[J]. Fish Sci Technol Inf, 2002, 29(4): 156-158.

[17] 农业部农药检定所. GBT 31270.1—2014: 化学农药环境安全评价试验准则[S]. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 2014.

Institute Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture of P.R.China. GBT 31270.1—2014: Guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides[S]. General Administration of Supervision, Inspection and Quarantine of P.R.China, 2014.

[18] 谢永泉. 铅的生物富集效应[J]. 广东微量元素科学, 1998, 5(4): 8-10.

XIE Y Q. The accumulative effect of the lead in biological body[J]. Trace Elem Sci, 1998, 5(4): 8-10.

(责任编辑: 唐 静)