



沈艳, 黄学屏, 刘晓敏, 等. 5种除草剂复合污染对斑马鱼的联合毒性效应[J]. 江西农业大学学报, 2025, 47(6): 1540–1548.
SHEN Y, HUANG X P, LIU X M, et al. Joint acute toxicities of five herbicides to zebrafish[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2025, 47(6): 1540–1548.

5种除草剂复合污染对斑马鱼的联合毒性效应

沈 艳, 黄学屏, 刘晓敏, 周凤艳, 张 勇*

(安徽省农业科学院 植物保护与农产品质量安全研究所, 安徽 合肥 230031)

摘要:【目的】旨在探明农药混合污染对斑马鱼的联合毒性效应。【方法】以斑马鱼成鱼为研究对象, 开展噁唑酰草胺、五氟磺草胺、敌稗、吡嘧磺隆、氰氟草酯5种除草剂的联合毒性研究, 根据96 h-LC₅₀值采用等毒比(1:1)进行二元及多元联合毒性试验。【结果】单一除草剂噁唑酰草胺、五氟磺草胺、敌稗、吡嘧磺隆和氰氟草酯对斑马鱼成鱼的96 h-LC₅₀值(有效成分)分别为1.048, 10.00, 4.440, 10.00, 3.819 mg/L。二元除草剂混合污染(氰氟草酯+五氟磺草胺、氰氟草酯+噁唑酰草胺、氰氟草酯+敌稗、噁唑酰草胺+五氟磺草胺)及三元除草剂混合污染(五氟磺草胺+吡嘧磺隆+氰氟草酯、噁唑酰草胺+敌稗+氰氟草酯)对斑马鱼的联合毒性均表现为拮抗作用。二元除草剂混合污染(氰氟草酯+吡嘧磺隆、吡嘧磺隆+五氟磺草胺、噁唑酰草胺+敌稗)对斑马鱼的联合毒性在24 h时表现为拮抗作用, 在48, 72, 96 h时均表现为协同作用。【结论】多元除草剂研发以及田间用药应优先选择具有拮抗作用的除草剂复配组合。结果可为水体环境中除草剂复合暴露的环境风险评估提供数据支撑。

关键词: 除草剂; 复合污染; 斑马鱼; 联合毒性; 环境风险评估

中图分类号: S481⁺.1; X592 文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

文章编号: 1000-2286(2025)06-1540-09

CSTR: 32399.14.aauj.2025133



Joint acute toxicities of five herbicides to zebrafish

SHEN Yan, HUANG Xueping, LIU Xiaomin, ZHOU Fengyan, ZHANG Yong*

(Institute of Plant Protection and Agro-Products Safety, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei 230031, China)

Abstract: [Objective] In order to explore the combined toxicity of mixed herbicides on zebrafish, this study investigates acute joint toxicities of metamifop, penoxsulam, propanil, pyrazosulfuron and cyhalofop-butyl to zebrafish. [Method] On the basis of single toxicity test, the combined acute toxicities of binary and multivariate herbicides were tested according to 96 h-LC₅₀ values (toxicity rate=1:1). [Result] The results showed that the 96 h-LC₅₀ values of metamifop, Penoxsulam, propanil, Pyrazosulfuron and cyhalofop-butyl for zebrafish were 1.048, 10.00, 4.440, 10.00 and 3.819 mg/L, respectively. The combined effects of binary herbicides (cyhalofop-

收稿日期: 2025-04-29 修回日期: 2025-05-27

基金项目: 安徽省自然科学基金青年项目(2308085QC94)

Project supported by Anhui Provincial Natural Science Foundation(2308085QC94)

作者简介: 沈艳, 助理研究员, 硕士, orcid.org/0000-0002-4056-6581, tianyou87@qq.com; *通信作者: 张勇, 研究员, 博士, 主要从事农药环境毒理和除草剂安全应用与评价研究, orcid.org/0009-0009-5617-1056, 469340869@qq.com。

©《江西农业大学学报》编辑部, 开放获取 CC BY-NC-ND 协议

butyl + penoxsulam, cyhalofop-butyl + metamifop, cyhalofop-butyl + propanil, metamifop + penoxsulam) and the ternary herbicides (penoxsulam + pyrazosulfuron + cyhalofop-butyl, metamifop + propanil + cyhalofop-butyl) on zebrafish showed an antagonistic effect. The combined effects of binary herbicides (cyhalofop-butyl + pyrazosulfuron, pyrazosulfuron + penoxsulam, metamifop + propanil) on zebrafish showed an additive effect at 24 h and synergistic effects were observed at 48, 72, and 96 h. [Conclusion] The research and production or the application of compound herbicides should prioritize the combination of herbicides with antagonistic effect toxicity. These results can provide data support for ecological risk assessment of herbicides combined exposure in aquatic environment.

Keywords: herbicides; combined pollution; zebrafish; joint toxicity; environmental risk assessment

【研究意义】随着农业的发展,农药的使用需求越来越高,大量农药的使用通过地表径流、淋溶、漂移等途径进入水体,造成水体污染,进而影响到人类健康^[1-4]。不同种类农药的使用则形成了农药复合污染,曹慧慧等^[5]对韭菜样品进行农药残留检测发现,噻虫胺和腐霉利等农药超标率较高,且部分样本存在联合用药情况,多种农药复合污染毒性具有相加作用。混配农药复合污染导致的联合毒性问题日益突出。【前人研究进展】噻唑酰草胺(metamifop)是由韩国化工技术研究院开发的芳氧苯氧丙酸酯类除草剂,主要喷施于苗后移栽和直播的水稻田,可有效抑制多数一年生禾本科杂草生长,且对水稻安全^[6]。五氟磺草胺(penoxsulam)是由美国陶农科公司(Dow AgroSciences)所开发的苗后用除草剂,它是三唑并嘧啶磺酰胺除草剂,通过抑制乙酰乳酸合成酶(ALS)而起作用^[7]。敌稗(propanil)是酰胺类除草剂,广泛应用于防治水稻农田的阔叶杂草和禾本科杂草,已有研究^[8-9]报道敌稗不仅对淡水鱼有安全风险,也会对人体免疫系统和神经系统产生不良影响。吡嘧磺隆(pyrazosulfuron-ethyl)是一种乙酰乳酸合成酶(ALS)抑制剂,属于磺酰脲类除草剂,即通过抑制植物体内的ALS酶,阻碍侧链氨基酸缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成,来抑制细胞分裂,从而使杂草正常生长受到破坏而死亡^[10]。氰氟草酯(cyhalofop-butyl),属于芳氧苯氧丙酸类除草剂,是一种内吸性芽后除草剂,具有高度选择性,对水稻安全^[11]。随着杂草对除草剂的抗药性发展,二元复配或三元复配除草剂在市场占比越来越大。氰氟草酯和噻唑酰草胺复配登记的产品有57种、氰氟草酯和五氟磺草胺复配登记的产品有56种,氰氟草酯、敌稗、吡嘧磺隆、五氟磺草胺和噻唑酰草胺之间也有多种二元或三元复配登记。实际农田环境中也主要是以混合农药形式存在。目前单一除草剂对斑马鱼毒性效应的研究较多,而探究多种除草剂对斑马鱼的联合毒性效应的研究相对较少。

【本研究切入点及拟解决的关键问题】以斑马鱼为供试生物,选用噻唑酰草胺、五氟磺草胺、敌稗、吡嘧磺隆、氰氟草酯5种水稻田除草剂进行单一、二元及三元混合污染对斑马鱼的急性毒性研究。以期为复合污染的生态毒理学环境风险评估提供毒理学数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试生物

斑马鱼(*Brachydanio rerio*), AB品系购于武汉中国科学院水生生物研究所国家斑马鱼资源中心,平均体质量0.23 g,平均体长2.6 cm,健康无病。试验用水,曝气自来水(24 h以上),水温为22~24 °C, pH为6.68~7.53,溶解氧含量不低于空气饱和值的80%,水质硬度为130~140 mg/L(以CaCO₃计)。试验前预养7 d(与试验相同的环境条件下),试验前24 h内不喂食。

1.1.2 供试药剂

噻唑酰草胺(96%)由江苏联化科技有限公司提供;五氟磺草胺(98%)由江苏富鼎化学有限公司提供;敌稗(98%)由辽宁省沈阳丰收农药有限公司提供;吡嘧磺隆(98%)由沈阳科创化学品有限公司提供;氰氟草酯(97%)由江苏丰山生化科技有限公司提供。

1.1.3 主要仪器设备

电子天平、移液器、便携式pH计、溶解氧分析仪、水质检测仪等,岛津LC-16高效液相色谱仪(配紫外检测器),岛津LCMS-8030超高效液相色谱-质谱联用仪。

1.2 试验方法

1.2.1 单一除草剂对斑马鱼的急性毒性试验

参照《化学农药环境安全评价试验准则》^[12],通过鱼类急性毒性试验分别测定噁唑酰草胺、五氟磺草胺、敌稗、吡嘧磺隆、氰氟草酯对斑马鱼的急性毒性。噁唑酰草胺、敌稗、氰氟草酯采用半静态法,每隔24 h更换试验溶液;五氟磺草胺、吡嘧磺隆采用静态法。根据预试验结果,正式试验质量浓度(有效成分)设置如下:噁唑酰草胺对斑马鱼的染毒质量浓度分别为0.200,0.300,0.450,0.675,1.013,1.519,2.278 mg/L;五氟磺草胺对斑马鱼的染毒质量浓度分别为1.000,10.00,100.0 mg/L;敌稗对斑马鱼的染毒质量浓度分别为2.000,2.600,3.380,4.394,5.712,7.426,9.654 mg/L;吡嘧磺隆对斑马鱼的染毒质量浓度分别为1.000,10.00,100.0 mg/L;氰氟草酯对斑马鱼的染毒质量浓度分别为2.000,2.500,3.125,3.906,4.883,6.104,7.629 mg/L。试验过程中设1个空白对照组(CK)和1个助溶剂对照组(CK_助)。

1.2.2 除草剂混合污染对斑马鱼的急性毒性试验

噁唑酰草胺、五氟磺草胺、敌稗、吡嘧磺隆和氰氟草酯的二元及三元混合污染对斑马鱼的联合毒性测定,依据单一除草剂对斑马鱼96 h-LC₅₀值为一个毒性单位,按照等毒比(1:1)进行混合配制。混合农药用曝气水以1.5倍浓度梯度稀释成一系列染毒溶液,具体浓度设置见表1。混合污染急性毒性试验均采用半静态法,每隔24 h更换试验药液。

1.2.3 试验药液真实浓度检测

半静态法急性毒性试验0 h、24 h分别留取试验药液新旧样品,静态法急性毒性试验0 h、96 h分别留取试验药液样品。将混匀后的药液样品过0.22 μm水系滤膜,加入色谱乙腈溶液,混合均匀后过0.22 μm有机相滤膜,分别用高效液相色谱仪和超高效液相色谱-质谱联用仪测定其含量。

1.2.4 数据处理与分析

采用统计软件SPSS 26.0处理数据,得到各除草剂单剂及混合药剂对斑马鱼的LC₅₀。联合毒性采用Marking相加指数法^[13]进行评定。生物毒性作用之和(S)计算公式为:

$$S=A_m/A_i+B_m/B_i+C_m/C_i \quad (1)$$

式(1)中: A_m 、 B_m 和 C_m 分别为混合物中各毒物的LC₅₀; A_i 、 B_i 和 C_i 分别为A、B和C毒物单独作用时的LC₅₀。

将S转换成相加指数(additive index, AI)。当S≤1时, AI=(1/S)-1.0;当S>1时, AI=1.0-S。AI>0时为协同作用, AI<0时为拮抗作用, AI=0时为相加作用。

2 结果与分析

2.1 试验药液真实质量浓度分析结果

根据试验药液质量浓度分析结果,供试物真实质量浓度在理论浓度的±20%以内,一个换药周期内的供试物浓度不低于初始质量浓度的80%,可用理论质量浓度计算供试除草剂对斑马鱼的急性毒性效应。

2.2 单一除草剂对斑马鱼的毒性效应

单一除草剂噁唑酰草胺、敌稗和氰氟草酯对斑马鱼的LC₅₀值(有效成分)见表2。3种除草剂对斑马鱼的毒性效应都存在一定的时间-剂量效应关系,且每种除草剂的LC₅₀值随着染毒时间的延长呈逐渐降低的趋势。噁唑酰草胺对斑马鱼的96 h-LC₅₀值为1.048 mg/L;敌稗对斑马鱼的96 h-LC₅₀值为4.440 mg/L;氰氟草酯对斑马鱼的96 h-LC₅₀值为3.819 mg/L;根据农药毒性等级划分标准均属“中毒”。五氟磺草胺、吡嘧磺隆为限度试验,96 h-LC₅₀大于100.0 mg/L,对斑马鱼的毒性均为“低毒”。

2.3 除草剂混合污染对斑马鱼的毒性效应

噁唑酰草胺、五氟磺草胺、敌稗、吡嘧磺隆和氰氟草酯的二元及三元混合污染对斑马鱼的联合毒性效应见表3。在染毒24, 48, 72, 96 h时,二元除草剂混合污染(氰氟草酯+五氟磺草胺;氰氟草酯+噁唑酰草胺;氰氟草酯+敌稗;噁唑酰草胺+五氟磺草胺)及三元除草剂混合污染(五氟磺草胺+吡嘧磺隆+氰氟草酯;噁唑酰草胺+敌稗+氰氟草酯)对斑马鱼的联合毒性均表现为拮抗作用。在染毒24 h时,二元除草剂混合污染(氰氟草酯+吡嘧磺隆;吡嘧磺隆+五氟磺草胺;噁唑酰草胺+敌稗)对斑马鱼的联合毒性均表现为拮抗作用。在染毒48, 72, 96 h时,二元除草剂混合污染(氰氟草酯+吡嘧磺隆;吡嘧磺隆+五氟磺草胺;噁唑酰草胺+敌稗)对斑马鱼的联合毒性均表现为协同作用(图1)。

表 1 除草剂混合污染对斑马鱼的急性毒性试验质量浓度设置
Tab.1 Concentration setting of acute toxicity test of mixed herbicides to zebrafish

处理组 Treatment	单位:mg/L									
	噁唑酰草胺+五 氟磺草胺	噁唑酰草胺+敌 稗	噁唑酰草胺+敌 稗+氟草酯	噁唑酰草胺+五 氟磺草胺+吡 叻隆	五氟磺草胺+氟 草酯	敌稗+氟草酯	吡叻隆+氟草酯	吡叻隆+吡叻隆 +氟草酯	五氟磺草胺+吡叻隆 +氟草酯	噁唑酰草胺+敌稗+氟 草酯
	Metamifop + penoxsulam	Metamifop + pro- panil	Metamifop + pro- panil + cyh- alofop-butyl	Metamifop + cyh- alofop-butyl + pyr- azosulfuron-ethyl	Penoxsulam + cy- halofop-butyl	Propanil + cyha- lofop-butyl	Pyrazosulfuron- ethyl+cyhalofop- butyl	Penoxsulam + pyrazosul- furon-ethyl + cyhalofop- butyl	Metamifop + propanil + cyhalofop-butyl	
C ₁	0.138+1.317	0.138+0.585	0.138+0.503	1.317+1.317	1.317+0.503	0.585+0.503	1.317+0.503	1.317+1.317+0.503	0.138+0.585+0.503	
C ₂	0.207+1.975	0.207+0.877	0.207+0.754	1.975+1.975	1.975+0.754	0.877+0.754	1.975+0.754	1.975+1.975+0.754	0.207+0.877+0.754	
C ₃	0.311+2.963	0.311+1.316	0.311+1.132	2.963+2.963	2.963+1.132	1.316+1.132	2.963+1.132	2.963+2.963+1.132	0.311+1.316+1.132	
C ₄	0.466+4.444	0.466+1.973	0.466+1.697	4.444+4.444	4.444+1.697	1.973+1.697	4.444+1.697	4.444+4.444+1.697	0.466+1.973+1.697	
C ₅	0.699+6.667	0.699+2.960	0.699+2.546	6.667+6.667	6.667+2.546	2.960+2.546	6.667+2.546	6.667+6.667+2.546	0.699+2.960+2.546	
C ₆	1.048+10.00	1.048+4.440	1.048+3.819	10.00+10.00	10.00+3.819	4.440+3.819	10.00+3.819	10.00+10.00+3.819	1.048+4.440+3.819	
C ₇	1.572+15.00	1.572+6.660	1.572+5.729	15.00+15.00	15.00+5.729	6.660+5.729	15.00+5.729	15.00+15.00+5.729	1.572+6.660+5.729	

表 2 3 种单一除草剂对斑马鱼的毒性效应
Tab.2 Toxicity effect of single herbicide for zebrafish

除草剂 Herbicide	暴露时间/h Exposure time/h	LC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	95% 置信区间/(mg·L ⁻¹)		毒力回归方程 Toxicity regression equation	R ² R ² values
			95% confidence interval			
噁唑酰草胺 Metamifop	24	1.465	1.131~2.181		Y=-0.847+5.111X	0.754
	48	1.306	1.006~1.840		Y=-0.591+5.096X	0.994
	72	1.123	0.822~1.723		Y=-0.174+3.470X	0.873
敌稗 Propanil	96	1.048	0.776~1.521		Y=-0.076+3.768X	0.993
	24	5.558	4.655~6.817		Y=-5.174+6.946X	0.789
	48	5.369	4.497~6.524		Y=-5.195+7.117X	0.925
氟草酯 Cyhalofop-butyl	72	4.636	3.759~5.789		Y=-3.529+5.298X	0.968
	96	4.440	3.658~5.437		Y=-3.923+6.060X	0.994
	24	4.339	3.676~5.223		Y=-4.329+6.792X	0.909
	48	4.055	3.448~4.835		Y=-4.336+7.131X	0.883
	72	3.941	3.342~4.682		Y=-4.243+7.124X	0.994
	96	3.819	3.257~4.500		Y=-4.466+7.674X	0.982

表3 除草剂混合污染对斑马鱼的毒性效应
Tab.3 The joint toxicity of mixed herbicides to zebrafish

除草剂组合 Herbicides group	暴露时间/h Exposure time	除草剂 Herbicide	LC ₅₀ / (mg·L ⁻¹)	95% 置信区间/ (mg·L ⁻¹) 95% confidence interval	毒力回归方程 Toxicity regression equation	R ² R ² values	生物毒性 作用之和(S) Sum	相加指数 (AI) Additive index	联合作用 Interaction
噁唑酰草胺+ 五氟磺草胺 Metamifop+ penoxsulam	24	噁唑酰草胺	0.791	0.569~1.256	Y=0.326+3.197X	0.968	1.294	-0.294	拮抗作用
		五氟磺草胺	7.545	5.429~11.987	Y=-2.804+3.195X	0.968			
	48	噁唑酰草胺	0.655	0.457~1.068	Y=0.503+2.744X	0.946	1.127	-0.127	拮抗作用
		五氟磺草胺	6.252	4.358~10.190	Y=-2.183+2.743X	0.945			
	72	噁唑酰草胺	0.575	0.405~0.867	Y=0.710+2.954X	0.928	1.060	-0.060	拮抗作用
		五氟磺草胺	5.483	3.864~8.274	Y=-2.182+2.953X	0.928			
噁唑酰草胺+ 敌稗 Metamifop+ propanil	24	噁唑酰草胺	0.541	0.383~0.793	Y=0.819+3.073X	0.996	1.033	-0.033	拮抗作用
		五氟磺草胺	5.163	3.654~7.565	Y=-2.190+3.072X	0.996			
	48	噁唑酰草胺	0.726	0.486~1.369	Y=0.328+2.359X	0.912	1.049	-0.049	拮抗作用
		敌稗	3.076	2.058~5.798	Y=-1.151+2.358X	0.912			
	72	噁唑酰草胺	0.543	0.359~0.897	Y=0.633+2.386X	0.923	0.844	0.185	协同作用
		敌稗	2.299	1.519~3.799	Y=-0.863+2.386X	0.923			
噁唑酰草胺+ 氰氟草酯 Metamifop+ cyhalofop-butyl	24	噁唑酰草胺	0.511	0.319~0.887	Y=0.622+2.132X	0.897	0.922	0.085	协同作用
		敌稗	2.163	1.351~3.756	Y=-0.714+2.133X	0.896			
	48	噁唑酰草胺	0.476	0.300~0.781	Y=0.723+2.244X	0.967	0.908	0.101	协同作用
		敌稗	2.016	1.269~3.307	Y=-0.683+2.244X	0.967			
	72	噁唑酰草胺	1.181	0.844~2.622	Y=-0.244+3.381X	0.837	1.798	-0.798	拮抗作用
		氰氟草酯	4.303	3.075~9.557	Y=-2.142+3.379X	0.838			
五氟磺草胺+ 吡嘧磺隆 Penoxsulam+ pyrazosulfuron-ethyl	24	噁唑酰草胺	0.957	0.686~1.720	Y=-0.061+3.197X	0.854	1.593	-0.593	拮抗作用
		氰氟草酯	3.487	2.499~6.278	Y=-1.733+3.195X	0.854			
	48	噁唑酰草胺	0.822	0.601~1.304	Y=-0.293+3.447X	0.892	1.492	-0.492	拮抗作用
		氰氟草酯	2.995	2.190~4.753	Y=-1.641+3.445X	0.893			
	72	噁唑酰草胺	0.723	0.536~1.049	Y=0.531+3.771X	0.994	1.380	-0.380	拮抗作用
		氰氟草酯	2.634	1.952~3.824	Y=-3.165+3.416X	0.994			
五氟磺草胺+ 吡嘧磺隆 Penoxsulam+ pyrazosulfuron-ethyl	24	五氟磺草胺	5.615	3.812~8.917	Y=-1.947+2.598X	0.997	1.123	-0.123	拮抗作用
		吡嘧磺隆	5.615	3.812~8.917	Y=-1.947+2.598X	0.997			
	48	五氟磺草胺	3.969	2.497~6.117	Y=-1.440+2.405X	0.914	0.794	0.260	协同作用
		吡嘧磺隆	3.969	2.497~6.117	Y=-1.440+2.405X	0.914			
	72	五氟磺草胺	3.518	2.215~5.182	Y=-1.419+2.598X	0.997	0.704	0.421	协同作用
		吡嘧磺隆	3.518	2.215~5.182	Y=-1.419+2.598X	0.997			
五氟磺草胺+ 氰氟草酯 Penoxsulam+ cyhalofop-butyl	24	五氟磺草胺	3.206	1.776~4.930	Y=-1.131+2.234X	0.956	0.641	0.560	协同作用
		吡嘧磺隆	3.206	1.776~4.930	Y=-1.131+2.234X	0.956			
	48	五氟磺草胺	12.413	8.670~34.835	Y=-3.519+3.217X	0.890	2.334	-1.334	拮抗作用
		氰氟草酯	4.741	3.311~13.310	Y=-2.174+3.216X	0.890			
	72	五氟磺草胺	10.372	7.540~19.380	Y=-3.622+3.566X	0.982	2.014	-1.014	拮抗作用
		氰氟草酯	3.961	2.879~7.402	Y=-2.131+3.565X	0.982			
五氟磺草胺+ 氰氟草酯 Penoxsulam+ cyhalofop-butyl	24	五氟磺草胺	9.131	6.543~16.410	Y=-3.069+3.195X	0.855	1.798	-0.798	拮抗作用
		氰氟草酯	3.487	2.499~6.268	Y=-1.733+3.195X	0.854			
	48	五氟磺草胺	8.440	6.143~13.740	Y=-3.165+3.416X	0.909	1.688	-0.688	拮抗作用
		氰氟草酯	3.223	2.346~5.246	Y=-1.737+3.417X	0.908			

续表 Continued									
除草剂组合 Herbicides group	暴露时间/h Exposure time	除草剂 Herbicide	LC ₅₀ / (mg·L ⁻¹)	95% 置信区间/ (mg·L ⁻¹) 95% confidence interval	毒力回归方程 Toxicity regression equation	R ² R ² values	生物毒性 作用之和(S) Sum	相加指数 (AI) Additive index	联合作用 Interaction
敌稗+氰氟草酯 Propanil+ cyhalofop-butyl	24	敌稗	3.022	2.290~4.183	Y=-2.119+4.411X	0.897	1.143	-0.143	拮抗作用
		氰氟草酯	2.599	1.969~3.598	Y=-1.830+4.411X	0.896			
	48	敌稗	2.713	1.966~4.047	Y=-1.418+3.270X	0.918	1.081	-0.081	拮抗作用
		氰氟草酯	2.334	1.691~3.482	Y=-1.203+3.269X	0.916			
	72	敌稗	2.557	1.860~3.715	Y=-1.376+3.374X	0.932	1.110	-0.110	拮抗作用
		氰氟草酯	2.200	1.599~3.195	Y=-1.155+3.373X	0.930			
	96	敌稗	2.388	1.767~3.345	Y=-1.414+3.738X	0.909	1.076	-0.076	拮抗作用
		氰氟草酯	2.054	1.520~2.877	Y=-1.169+3.738X	0.907			
吡嘧磺隆+ 氰氟草酯 Pyrazosulfuron- ethyl+cyhalofop- butyl	24	吡嘧磺隆	6.928	4.636~13.06	Y=-1.982+2.358X	0.912	1.303	-0.303	拮抗作用
		氰氟草酯	2.646	1.770~4.987	Y=-0.996+2.358X	0.911			
	48	吡嘧磺隆	4.841	3.221~7.643	Y=-1.710+2.497X	0.971	0.940	0.064	协同作用
		氰氟草酯	1.849	1.230~2.919	Y=-0.666+2.497X	0.971			
	72	吡嘧磺隆	4.229	2.762~6.496	Y=-1.570+2.508X	0.912	0.833	0.201	协同作用
		氰氟草酯	1.615	1.055~2.481	Y=-0.522+2.507X	0.911			
	96	吡嘧磺隆	3.734	2.383~5.572	Y=-1.466+2.561X	0.955	0.747	0.339	协同作用
		氰氟草酯	1.426	0.910~2.128	Y=-0.395+2.561X	0.954			
五氟磺草胺+ 吡嘧磺隆+ 氰氟草酯 Penoxsulam+ pyrazosulfuron- ethyl+cyhalofop- butyl	24	五氟磺草胺	7.029	5.121~10.48	Y=-2.916+3.443X	0.990	2.024	-1.024	拮抗作用
		吡嘧磺隆	7.029	5.121~10.48	Y=-2.916+3.443X	0.990			
		氰氟草酯	2.684	1.956~4.002	Y=-1.477+3.444X	0.990			
	48	五氟磺草胺	6.290	4.418~9.865	Y=-2.289+2.866X	0.961	1.850	-0.850	拮抗作用
		吡嘧磺隆	6.290	4.418~9.865	Y=-2.289+2.866X	0.961			
		氰氟草酯	2.402	1.687~3.768	Y=-1.091+2.866X	0.960			
	72	五氟磺草胺	5.615	3.812~8.917	Y=-1.947+2.598X	0.997	1.667	-0.667	拮抗作用
		吡嘧磺隆	5.615	3.812~8.917	Y=-1.947+2.598X	0.997			
噁唑酰草胺+ 敌稗+氰氟草酯 Metamifop+ propanil+ cyhalofop-butyl	24	噁唑酰草胺	0.874	0.609~1.605	Y=0.161+2.765X	0.996	1.997	-0.997	拮抗作用
		敌稗	3.703	2.578~6.798	Y=-1.571+2.763X	0.996			
		氰氟草酯	3.185	2.217~5.847	Y=-1.390+2.763X	0.996			
		噁唑酰草胺	0.856	0.563~1.912	Y=0.151+2.241X	0.971			
		敌稗	3.627	2.385~8.097	Y=-1.254+2.241X	0.971			
		氰氟草酯	3.120	2.052~6.966	Y=-1.107+2.241X	0.971			
	72	噁唑酰草胺	0.683	0.452~1.260	Y=0.382+2.305X	0.915	1.863	-0.863	拮抗作用
		敌稗	2.891	1.914~5.340	Y=-1.062+2.304X	0.915			
		氰氟草酯	2.487	1.647~4.593	Y=-0.912+2.304X	0.915			
		噁唑酰草胺	0.555	0.372~0.869	Y=0.656+2.562X	0.955			
		敌稗	2.349	1.574~3.681	Y=-0.950+2.561X	0.955			
		氰氟草酯	2.020	1.354~3.166	Y=-0.782+2.561X	0.955			

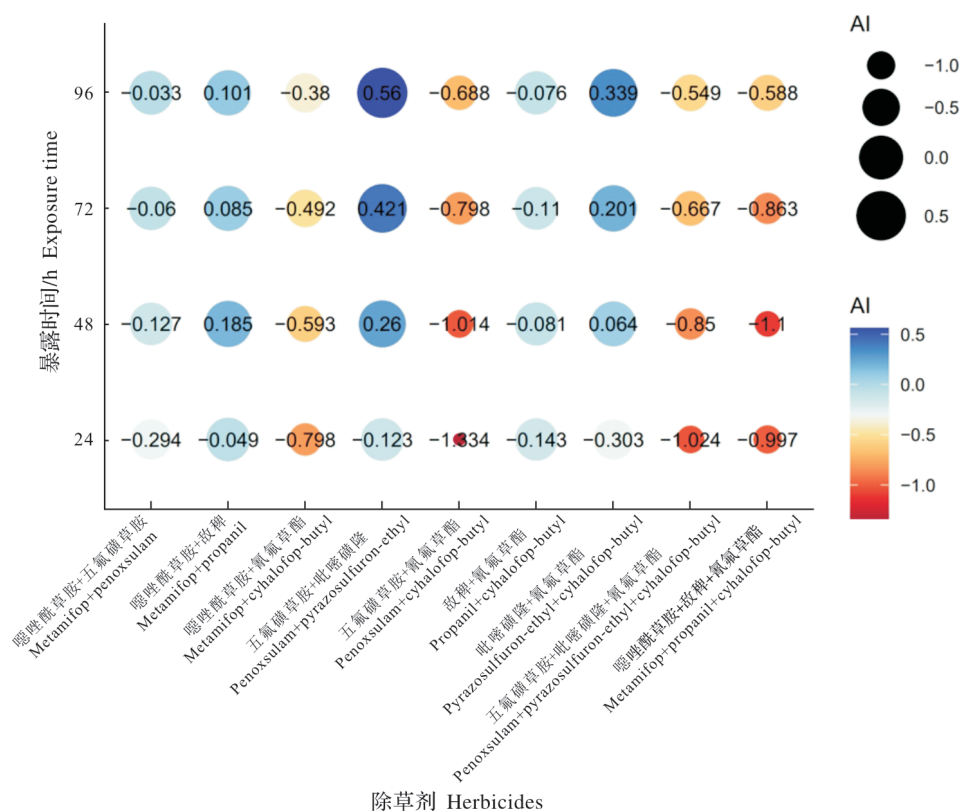


图1 除草剂混合污染对斑马鱼的联合毒性效应

Fig.1 The joint toxicity of mixed herbicides to zebrafish

3 结论与讨论

研究表明,单一除草剂噁唑酰草胺、敌稗和氰氟草酯对斑马鱼的急性毒性等级均为“中毒”,五氟磺草胺和吡嘧磺隆对斑马鱼的急性毒性等级为“低毒”。在实际生态环境中,农药等污染物并不是以单一形式存在,而是以混合形式存在,可能产生更为复杂的联合毒性效应。因此,开展农药复合暴露的联合毒性研究对于农药复合污染的风险评价及防治更具有实际意义。

研究表明,2种除草剂混合暴露(氰氟草酯+吡嘧磺隆、吡嘧磺隆+五氟磺草胺、噁唑酰草胺+敌稗)对斑马鱼的联合毒性在24 h时表现为拮抗作用,在48,72,96 h时则表现为协同作用,表明这几种除草剂组合的联合毒性效应与暴露时间有关。氰氟草酯+吡嘧磺隆、五氟磺草胺+吡嘧磺隆这2个混配组合的协同增毒作用随暴露时间的增长而逐渐增加;噁唑酰草胺+敌稗混配的协同增毒作用在暴露48 h时最大。啉虫脒与啉菌酯复合污染后毒性效应增强,且随着暴露时间的增长,协同作用增强^[14]。除草剂混合暴露(氰氟草酯+五氟磺草胺、氰氟草酯+噁唑酰草胺、氰氟草酯+敌稗、噁唑酰草胺+五氟磺草胺)及3种除草剂混合暴露(五氟磺草胺+吡嘧磺隆+氰氟草酯、噁唑酰草胺+敌稗+氰氟草酯)对斑马鱼的联合毒性均表现为拮抗作用,表明这几种除草剂混配组合的毒性低于其中单一除草剂的毒性。联合毒性表现出拮抗作用的具体机理尚不明确,可能是斑马鱼对不同成分在吸收和代谢方面存在差异。同时,拮抗作用也可能与混剂中各成分的配比有关^[15]。

郭东海等^[16]研究了4种农药复合污染对斑马鱼仔鱼联合毒性效应,结果表明,所有三元农药(氯氰菊酯+马拉硫磷+杀螟硫磷、氯氰菊酯+马拉硫磷+咪鲜胺、马拉硫磷+杀螟硫磷+咪鲜胺和咪鲜胺+氯氰菊酯+杀螟硫磷)和四元农药(氯氰菊酯+马拉硫磷+杀螟硫磷+咪鲜胺)混合污染对斑马鱼仔鱼联合作用均表现为协同作用。杀菌剂腈苯唑与铜等毒配比混配对斑马鱼仔鱼和胚胎的联合毒性均为加和作用,AI法与CTC法评价其对成鱼的联合毒性分别为拮抗和加和效应^[17]。吕敏等^[18]研究纳米塑料和砷对斑马鱼的联合毒性,发现聚苯乙烯纳米塑料能在斑马鱼的肝脏和鳃中富集,且促进砷在斑马鱼各组织中的积累。Yang等^[19]研究了杀虫剂、除草剂和杀真菌剂联合染毒对斑马鱼的毒性,吡虫啉、乙草胺和戊唑醇以

特定比例组合对斑马鱼显示出协同毒性作用,且对斑马鱼具有联合生殖毒性。吡虫啉和阿维菌素混合暴露对斑马鱼有内分泌干扰效应^[20]。氯氰菊酯和马拉硫磷的联合暴露能显著改变斑马鱼体内的下丘脑-垂体-性腺轴 *VTG* 雌激素相关基因,显著增加雌激素内分泌干扰效应^[21]。目前对斑马鱼的联合毒性研究主要以杀虫剂、杀菌剂为主,除草剂对斑马鱼的联合毒性效应的机制研究较少。

农药的多元复配应考虑几个关键因素:有效成分之间的联合作用、各单剂成分的浓度配比及其变化对相互作用的影响。为了“协同增效”而研发的农药多元复配药剂越来越多,随之而来的“协同增毒”效应也不能忽视^[22]。

在实际农业生产中,农药的联合使用不仅要提高对病虫草害的防治效果,还应尽可能减少对环境的污染,因此多元除草剂的研发以及田间用药应尽可能选择具有拮抗作用的除草剂复配组合,以有效地降低农药对环境的负面影响。多元除草剂的研发和田间用药应考虑有效成分之间的联合作用及其浓度配比,避免“协同增毒”效应。

参考文献 References:

- [1] PATHAK V M, VERMA V K, RAWAT B S, et al. Current status of pesticide effects on environment, human health and it's eco-friendly management as bioremediation: a comprehensive review[J]. *Frontiers in microbiology*, 2022, 13: 962619.
- [2] KUMAR P, KUMAR R, THAKUR K, et al. Impact of pesticides application on aquatic ecosystem and biodiversity: a review [J]. *Biology bulletin*, 2023, 50(6): 1362-1375.
- [3] TUDI M, RUAN H D, WANG L, et al. Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment[J]. *International journal of environmental research and public health*, 2022, 18: 1112.
- [4] KUMAR J K, MONICA S S, VINOTHKUMAR B, et al. Impact of pesticide exposure on environment and biodiversity: a review[J]. *Agricultural reviews*, 2021, 45(1): 1-12.
- [5] 曹慧慧, 王帅, 赵海涛, 等. 唐山地区韭菜农药残留检测分析及膳食摄入风险评估[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(1): 336-344.
CAO H H, WANG S, ZHAO H T, et al. Detection and analysis of pesticide residues in Chinese chives available in Tangshan and risk assessment of the associated dietary intake[J]. *Modern food science and technology*, 2022, 38(1): 336-344.
- [6] 左平春, 纪明山, 臧晓霞, 等. 稻田稗草对噁唑酰草胺的抗性水平和 ACCase 活性[J]. *植物保护学报*, 2017, 44(6): 1040-1045.
ZUO P C, JI M S, ZANG X X, et al. The resistance level and acetyl co-enzyme a carboxylase activity of *Echinochloa phyllopogon* populations to metamifop in paddies[J]. *Journal of plant protection*, 2017, 44(6): 1040-1045.
- [7] 郭文磊, 冯莉, 张纯, 等. 广东省水稻田稗对五氟磺草胺的抗性分析[J]. *植物保护学报*, 2020, 47(5): 1131-1138.
GUO W L, FENG L, ZHANG C, et al. Resistance of barnyard grass *Echinochloa crus-galli* to penoxsulam in rice fields in Guangdong Province[J]. *Journal of plant protection*, 2020, 47(5): 1131-1138.
- [8] 黄永凯, 胡继业. 水稻中敌稗和莎稗磷的残留水平及膳食风险评估[J]. *农药*, 2022, 61(2): 118-122.
HUANG Y K, HU J Y. Residual levels and dietary risk assessments of propanil and anilofos in rice[J]. *Agrochemicals*, 2022, 61(2): 118-122.
- [9] LI T, ABDELHALEEM A, CHU W, et al. Efficient activation of oxone by pyrite for the degradation of propanil: kinetics and degradation pathway[J]. *Journal of hazardous materials*, 2021, 403: 123930.
- [10] 刘亚光, 魏超月, 张正南, 等. 黑龙江省部分稻田萤蔺种群对吡嘧磺隆的抗性分析[J]. *南方农业学报*, 2019, 50(3): 570-577.
LIU Y G, WEI C Y, ZHANG Z N, et al. An analysis on the resistance of some *Scirpus juncoides* Roxb. populations in rice fields from Heilongjiang Province to pyrazosulfuron-ethyl[J]. *Journal of southern agriculture*, 2019, 50(3): 570-577.
- [11] 吕昂, 朱坤淼, 刘军, 等. 除草剂氟草酯对稻田土壤微生物生态的影响[J]. *湖北农业科学*, 2024, 63(增刊1): 116-122.
LYU A, ZHU K M, LIU J, et al. Effects of herbicide cyhalofop-butyl on microbial ecology in rice field[J]. *Hubei agricultural sciences*, 2024, 63(Sup1): 116-122.
- [12] 中华人民共和国农业部. 化学农药环境安全评价试验准则 第12部分 鱼类急性毒性试验: GB/T 31270—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.

- Ministry of agriculture of PRC. Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides—Part 12—fish acute toxicity test: GB/T 31270—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014.
- [13] MARKING L L. Method for assessing additive toxicity of chemical mixtures[M]//Aquatic toxicology and hazard evaluation. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1977: 99-108.
- [14] 万玉杰. 啮虫脒和啞菌酯复合污染毒性效应及环境行为研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2022.
- WAN Y J. Toxic effects and environmental behavior of acetamiprid and azoxystrobin combined pollution[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2022.
- [15] 郭志芯, 毛连纲, 张兰, 等. 啞菌酯与三种外源硒对不同生命阶段斑马鱼的联合毒性[J]. 农药学学报, 2021, 23(6): 1159-1167.
- GUO Z X, MAO L G, ZHANG L, et al. Joint toxicity effects of azoxystrobin and three kinds of exogenous selenium on zebrafish during different life stages[J]. Chinese journal of pesticide science, 2021, 23(6): 1159-1167.
- [16] 郭东梅, 李耘, 邱静, 等. 4种农药复合污染对斑马鱼仔鱼联合毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(6): 241-247.
- GUO D M, LI Y, QIU J, et al. Joint acute toxicities of four pesticides to embryo-larval zebrafish, *Danio rerio*[J]. Asian journal of ecotoxicology, 2019, 14(6): 241-247.
- [17] 张忠煜, 谢瑶, 郭梦宇, 等. 腈苯唑与铜对不同生命阶段斑马鱼的联合急性毒性效应[J]. 农药学学报, 2024, 26(4): 798-807.
- ZHANG Z Y, XIE Y, GUO M Y, et al. Combined acute toxic effects of fenbuconazole and copper on zebrafish (*Danio rerio*) at different life stages[J]. Chinese journal of pesticide science, 2024, 26(4): 798-807.
- [18] 吕敏, 李国新, 李青松, 等. 纳米塑料和砷对斑马鱼的联合毒性[J]. 中国环境科学, 2024, 44(4): 2345-2356.
- LYU M, LI G X, LI Q S, et al. Combined toxicity of nanoplastics and arsenic to zebrafish (*Danio rerio*)[J]. China environmental science, 2024, 44(4): 2345-2356.
- [19] YANG J, CHANG Y M, ZHANG Y N, et al. Combined reproductive effects of imidacloprid, acetochlor and tebuconazole on zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Agriculture, 2022, 12(12): 1979.
- [20] SANTIAGO M R, SALVO L M, BADARO-PEDROSO C, et al. Single and mixed exposure to distinct groups of pesticides suggests endocrine disrupting properties of imidacloprid in zebrafish embryos[J]. Journal of environmental science and health, Part B, 2023, 58(3): 217-228.
- [21] 郭东梅, 邱静, 钱永忠, 等. 氯氰菊酯和马拉硫磷对斑马鱼下丘脑-垂体-性腺轴基因的雌激素联合效应[J]. 生态毒理学报, 2022, 17(4): 482-488.
- GUO D M, QIU J, QIAN Y Z, et al. Combined estrogen effects of cypermethrin and malathion on hypothalamic-pituitary-gonad axis gene in zebrafish[J]. Asian journal of ecotoxicology, 2022, 17(4): 482-488.
- [22] 陈朗, 姜辉, 贾俊超, 等. 农药混配制剂环境风险评估现状与展望[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(4): 15-24.
- CHEN L, JIANG H, JIA J C, et al. Environmental risk assessment for mixed pesticide products: current situation and prospects[J]. Asian journal of ecotoxicology, 2017, 12(4): 15-24.

(责任编辑: 张前锋)