

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20150921002

徐晓平, 席贻龙, 黄林.  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Mn}^{2+}$  对萼花臂尾轮虫联合急性毒性研究[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(3): 338-347

Xu X P, Xi Y L, Huang L. Combined acute toxicities of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ , and  $\text{Mn}^{2+}$  to freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(3): 338-347 (in Chinese)

# $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Mn}^{2+}$ 对萼花臂尾轮虫联合急性毒性研究

徐晓平<sup>1,2</sup>, 席贻龙<sup>1,\*</sup>, 黄林<sup>1</sup>

1. 安徽师范大学 生命科学学院, 安徽省皖江城市带退化生态系统的恢复与重建协同创新中心, 芜湖 241000

2. 安徽工程大学 建筑工程学院, 芜湖 241000

收稿日期: 2015-09-21 录用日期: 2015-11-27

**摘要:** 为探究重金属复合污染对轮虫的毒性影响, 以萼花臂尾轮虫为受试动物, 选择  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Mn}^{2+}$  等 5 种重金属, 采用水生毒理联合效应相加指数法开展了其 24 h 联合急性毒性作用的评价研究。结果显示,  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Mn}^{2+}$  等 5 种重金属对萼花臂尾轮虫 24 h 半数致死浓度分别为:  $0.00616 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $12.62 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $2.89 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $17.29 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $67.32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。联合急性毒性实验结果显示, 等毒性配比的  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cr}^{6+}$  ( $0.00385$ - $10.806 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和等浓度配比的  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Zn}^{2+}$  ( $0.0199$ - $0.0199 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、 $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$  ( $0.0181$ - $0.0181 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、 $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cr}^{6+}$  ( $0.0118$ - $0.0118 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、 $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$  ( $3.475$ - $3.475 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 二元联合测试液的作用结果显示为拮抗效应, 其余二元联合测试液的作用结果则均显示是协同效应。等毒性配比的  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cr}^{6+}$ - $\text{Mn}^{2+}$  ( $0.00210$ - $5.902$ - $22.981 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和等浓度配比的  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$ - $\text{Mn}^{2+}$  ( $0.00727$ - $0.00727$ - $0.00727 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 三元联合测试液的作用结果显示为拮抗效应, 其余三元联合测试液的作用结果则均显示是协同效应。等浓度配比的  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$ - $\text{Cr}^{6+}$  ( $0.00907$ - $0.00907$ - $0.00907$ - $0.00907 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、 $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$ - $\text{Mn}^{2+}$  ( $0.00898$ - $0.00898$ - $0.00898$ - $0.00898 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、 $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Cr}^{6+}$ - $\text{Mn}^{2+}$  ( $0.00819$ - $0.00819$ - $0.00819$ - $0.00819 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 四元联合测试液的作用结果显示为拮抗效应, 其余四元联合测试液的作用结果的则均显示是协同效应。 $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$ - $\text{Cr}^{6+}$ - $\text{Mn}^{2+}$  等毒性 ( $0.00074$ - $1.520$ - $0.348$ - $2.082$ - $8.107 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和等浓度 ( $0.00582$ - $0.00582$ - $0.00582$ - $0.00582$ - $0.00582 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 配比的五元联合测试液作用结果均显示是协同效应。

**关键词:** 重金属; 萼花臂尾轮虫; 联合毒性; 急性毒性

文章编号: 1673-5897(2016)3-338-10 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Combined Acute Toxicities of $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Cr}^{6+}$ , and $\text{Mn}^{2+}$ to Freshwater Rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas

Xu Xiaoping<sup>1,2</sup>, Xi Yilong<sup>1,\*</sup>, Huang Lin<sup>1</sup>

1. Collaborative Innovation Center of Recovery and Reconstruction of Degraded Ecosystem in Wanjiang City Belt, College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China

2. College of Civil Engineering and Architecture, Anhui Polytechnic University, Wuhu 241000, China

Received 21 September 2015 accepted 27 November 2015

**基金项目:** 国家自然科学基金(31470015); 安徽省高校生物环境与生态安全省级重点实验室专项基金(2004sys003); 安徽省高等学校自然科学研究重点项目(KJ2016A063)

**作者简介:** 徐晓平(1979-), 男, 博士, 研究方向为水生生态毒理学, E-mail: xuxp1979@126.com

\* **通讯作者** (Corresponding author), E-mail: ylx1965@126.com

**Abstract:** Rotifers are one of the important groups of zooplankton in freshwater ecosystem and are recognized as ideal bioassay animals for toxicity tests because of their small size, short generation time, and rapid reproduction rate. In order to investigate the toxic effects of combined pollution of heavy metal on the rotifers, the 24 h combined acute toxicities of Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup>, and Mn<sup>2+</sup> to *Brachionus calyciflorus* were evaluated using the additive index of coeffects for aquatic toxicology. The 24 h single toxicity test showed that the median lethal concentrations (LC<sub>50</sub>) of Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup>, and Mn<sup>2+</sup> to *B. calyciflorus* were 0.00616 mg·L<sup>-1</sup>, 12.62 mg·L<sup>-1</sup>, 2.89 mg·L<sup>-1</sup>, 17.29 mg·L<sup>-1</sup>, and 67.32 mg·L<sup>-1</sup>, respectively. The 24 h combined acute toxicity of Cu<sup>2+</sup>-Cr<sup>6+</sup> (0.00385-10.806 mg·L<sup>-1</sup>) was antagonism when the toxicity ratio of the two was 1:1, which is similar to the Cu<sup>2+</sup>-Zn<sup>2+</sup> (0.0199-0.0199 mg·L<sup>-1</sup>), Cu<sup>2+</sup>-Cd<sup>2+</sup> (0.0181-0.0181 mg·L<sup>-1</sup>), Cu<sup>2+</sup>-Cr<sup>6+</sup> (0.0118-0.0118 mg·L<sup>-1</sup>), and Zn<sup>2+</sup>-Cd<sup>2+</sup> (3.475-3.475 mg·L<sup>-1</sup>) combined at the concentration ratio of 1:1. The actions of the other binary mixtures were all synergism regardless of the combined pattern. Both the 24 h combined acute toxicities of Cu<sup>2+</sup>-Cr<sup>6+</sup>-Mn<sup>2+</sup> (0.00210-5.902-22.981 mg·L<sup>-1</sup>) and Cu<sup>2+</sup>-Cd<sup>2+</sup>-Mn<sup>2+</sup> (0.00727-0.00727-0.00727 mg·L<sup>-1</sup>) were antagonism when combined at the toxicity ratio of 1:1:1 and the concentration ratio of 1:1:1, respectively. The actions of the other ternary mixtures were all synergism. At the concentration ratio of 1:1:1:1, the 24 h acute combined toxicities of Cu<sup>2+</sup>-Zn<sup>2+</sup>-Cd<sup>2+</sup>-Cr<sup>6+</sup> (0.00907-0.00907-0.00907-0.00907 mg·L<sup>-1</sup>), Cu<sup>2+</sup>-Zn<sup>2+</sup>-Cd<sup>2+</sup>-Mn<sup>2+</sup> (0.00898-0.00898-0.00898-0.00898 mg·L<sup>-1</sup>), and Cu<sup>2+</sup>-Zn<sup>2+</sup>-Cr<sup>6+</sup>-Mn<sup>2+</sup> (0.00819-0.00819-0.00819-0.00819 mg·L<sup>-1</sup>) were all antagonism. The actions of the other quaternary mixture were all synergism. The 24 h combined acute toxicities of the Cu<sup>2+</sup>-Zn<sup>2+</sup>-Cd<sup>2+</sup>-Cr<sup>6+</sup>-Mn<sup>2+</sup> were synergism when combined at the toxicity ratio of 1:1:1:1 (0.00074-1.520-0.348-2.082-8.107 mg·L<sup>-1</sup>) and the concentration ratio of 1:1:1:1 (0.00582-0.00582-0.00582-0.00582-0.00582 mg·L<sup>-1</sup>). The present results indicated that the pattern of combination should be fully considered when evaluating the combined acute toxicity of metal mixtures.

**Keywords:** heavy metals; *Brachionus calyciflorus*; combined toxicity; acute toxicity

目前,我国水体重金属污染情况仍然较为严重,不断威胁着水生态系统平衡和人们的生活和健康。2015年7月,国家环保部公布的《2015年上半年全国环境质量状况》指出,全国有8个地表水国控断面(点位)共出现18次重金属超标现象。重金属污染很少是由单一金属污染造成,往往是由多种重金属联合存在引起的复合污染<sup>[1-2]</sup>。重金属共存时,其毒性效应与单一金属具有很大差异<sup>[3]</sup>,因此,研究多种重金属共存时的联合毒性效应具有更为重要的现实意义。

轮虫(rotifer)是广泛分布于各类水体中的一类浮游动物,是浮游动物四大类群之一。虽然轮虫的个体在所有后生动物中为最小,但其繁殖速率较快,能够迅速占领环境中的生态位,其转换效率极高,在淡水水体生态系统结构功能、能量传递及物质转换上具有重要意义<sup>[4]</sup>。也正是因为如此,由于水体污染导致轮虫种群的变动也势必会影响整个水生态系统的平衡,所以,暴露于不同污染物下轮虫各生物学参数的变化引起人们越来越多的关注<sup>[5-6]</sup>。此外,轮虫世代时间短、个体小、繁殖快、易培养,是开展生态毒理学研究的理想受试生物<sup>[7]</sup>。美国材料与试验协

会(ASTM)将萼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*)和褶皱臂尾轮虫(*B. plicatilis*)分别作为淡水和海水的标准测试生物<sup>[8]</sup>。经济合作与发展组织(OECD)将轮虫视作无脊椎动物中进行环境毒性测试最有前途的分类群<sup>[9]</sup>。

Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>和 Mn<sup>2+</sup>等5种重金属均属于常见环境污染物,在我国工业废水排放以及饮用水质量标准中都有明确的限值规定,其中,Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>和 Mn<sup>2+</sup>是生物体必需的金属元素,但过量摄入会导致机体的损伤甚至死亡;Cd<sup>2+</sup>和 Cr<sup>6+</sup>是非生命必需元素,即是在很低剂量亦会表现出一定的毒性。该5种重金属或是在地球化学循环和致毒机理等方面存在很大差异,如 Cu<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>和 Mn<sup>2+</sup>,或是相伴而生、结构与化学性质相似,如 Zn<sup>2+</sup>和 Cd<sup>2+</sup>,因此,常被选作用于开展重金属联合毒性效应的研究<sup>[10-12]</sup>。目前,关于此类重金属对轮虫的毒性影响的报道主要集中在单一毒性<sup>[13-15]</sup>,联合毒性影响鲜有研究。因此,本研究目的之一是丰富轮虫毒理学的基础资料,为开展重金属复合污染对水体生态系统影响的评价提供科学参考。其次,重金属复合污染作用机理复杂,影响因素较多,规律难寻<sup>[3]</sup>,本研究的目的

之二是希望通过设置不同毒物配比方式,评价其对轮虫的联合毒性效应,寻找其作用规律,以期为重金属联合毒性评价研究积累理论数据。为此,本文首先在实验室条件下开展了该5种重金属对萼花臂尾轮虫24 h的单一急性毒性作用研究,在此基础上,研究了等毒性和等浓度配比的情况下,该5种重金属中的二元、三元、四元和五元联合对萼花臂尾轮虫24 h联合急性毒性,并通过运用“水生毒理联合效应相加指数法”判定了这些联合毒性作用效应的类型。

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 轮虫的来源与培养

实验所用的萼花臂尾轮虫采自芜湖市汀棠湖(119°21' E, 31°20' N),实验室内在(25±1)℃、自然光照条件下进行“克隆”培养,培养时间为3个月以上;轮虫培养液采用EPA配方<sup>[16]</sup>,所用饵料由HB-4培养基<sup>[17]</sup>培养、处于指数增长期的斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*),离心浓缩后使用。实验前,将轮虫置于(25±1)℃、无光照的恒温培养箱内进行1周以上的预培养,培养期间每天投喂密度为 $2.0 \times 10^6$  cell·mL<sup>-1</sup>的斜生栅藻并更换轮虫培养液,同时通过去除一部分个体使得轮虫种群始终处于指数增长期。

### 1.2 测试液的配制

实验所用CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O(无锡市亚盛化工有限公司生产)、ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O(无锡市亚盛化工有限公司生产)、CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O(国药集团化学试剂有限公司生产)、K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>(无锡市展望化工试剂有限公司生产)和MnCl<sub>2</sub>(国药集团化学试剂有限公司生产)均为分析纯(≥99%)。实验前,首先用蒸馏水配制1 000 mg·L<sup>-1</sup>的母液(均为重金属离子浓度,Cu<sup>2+</sup>是100 mg·L<sup>-1</sup>),实验时,再用EPA培养基将母液稀释成所需各浓度的测试液。母液中的实际金属元素浓度经由等离子体发射光谱(ICP-OES, PerkinElmer Optima 2100 DV)测定<sup>[18]</sup>。所有待用的玻璃器皿实验前用相应的测试液浸泡24 h,实验过程中每24 h更换新鲜测试液。

### 1.3 实验设计

#### 1.3.1 单一金属24 h急性毒性实验

依据预实验结果,设置等对数间距的5组金属浓度和1组空白对照,具体如下,Cu<sup>2+</sup>: 0.0042、0.0056、0.0075、0.01、0.0135 mg·L<sup>-1</sup>; Zn<sup>2+</sup>: 7.5、10、13.5、18、24 mg·L<sup>-1</sup>; Cd<sup>2+</sup>: 1、1.8、3.2、5.6、10 mg·L<sup>-1</sup>; Cr<sup>6+</sup>: 10、13.5、18、24、32 mg·L<sup>-1</sup>; Mn<sup>2+</sup>: 32、42、56、

75、100 mg·L<sup>-1</sup>。每个处理组设置4个重复。实验开始前,从预培养的试管中随机挑取若干个带非混交卵的轮虫雌体置于含有与预培养相同藻密度培养液的玻璃烧杯中进行培养,12 h后,由各烧杯中随机吸取10个轮虫幼体置于含6 mL玻璃烧杯中,加入2.5 mL相应金属浓度(对照组加入EPA培养基),于(25±1)℃、无光照的恒温培养箱中进行暴露,实验期间不投喂食物,24 h后计数每个烧杯中存活的轮虫数目。

#### 1.3.2 联合急性毒性实验

以二元金属联合为例,将单一金属24 h的半数致死浓度(LC<sub>50</sub>)值作为一个毒性单位,分别按照毒性1:1和浓度1:1的混合比例并以等对数间距(参照毒性较大的物质设计)设置5组不同的实验浓度。三元、四元和五元重金属联合的实验设计与此一样。联合急性毒性实验方法均与单一金属的相同。

### 1.4 数据处理

单一和联合金属急性毒性实验24 h的LC<sub>50</sub>值依据机率单位法原理,运用SPSS16.0分析软件中机率分析(probit analysis)得出。

### 1.5 联合毒性评价方法

修瑞琴等<sup>[19]</sup>在Marking<sup>[20]</sup>的相加指数法的基础上,提出了“水生毒理联合效应相加指数法”,该方法在目前国内水生毒理学联合毒性试验研究中的应用较为广泛。以二元联合为例,在求得联合毒性的LC<sub>50</sub>值后,用公式(1)求得生物毒性相加作用之和(S):

$$S = (A_m / A_1) + (B_m / B_1) \quad (1)$$

式中,A<sub>1</sub>、B<sub>1</sub>分别是毒物A、B单一毒性的LC<sub>50</sub>值;A<sub>m</sub>、B<sub>m</sub>分别是混合物中各毒物的毒性(LC<sub>50</sub>)。

将S转换成相加指数AI(additive index),即当S ≤ 1时,AI = (1 / S) - 1;当S > 1时,AI = -S + 1。最后用AI评价毒物联合效应,AI > 0为大于相加作用,即协同作用(synergism);AI < 0为小于相加作用,即拮抗作用(antagonism);AI = 0为相加作用(addition)。

## 2 结果 (Results)

### 2.1 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>和Mn<sup>2+</sup>5种金属对萼花臂尾轮虫的单一急性毒性

表1所示为Cu<sup>2+</sup>等5种金属对萼花臂尾轮虫24 h的LC<sub>50</sub>值和金属浓度对数与死亡机率单位的线性回归方程。由表可见,该5种金属对萼花臂尾轮虫的毒性大小依次为Cu<sup>2+</sup> > Cd<sup>2+</sup> > Zn<sup>2+</sup> > Cr<sup>6+</sup> > Mn<sup>2+</sup>。

## 2.2 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>和 Mn<sup>2+</sup> 5种金属对蓼花臂尾轮虫的二元联合急性毒性

表2所示为Cu<sup>2+</sup>等5种金属等毒性和等浓度配比情况下二元联合对蓼花臂尾轮虫24 h的LC<sub>50</sub>值和依据公式(1)判别的联合作用效应。由表可知,等毒性配比的Cu<sup>2+</sup>-Cr<sup>6+</sup>(0.00385-10.806 mg·L<sup>-1</sup>)和等浓度配比的Cu<sup>2+</sup>-Zn<sup>2+</sup>(0.0199-0.0199 mg·L<sup>-1</sup>)、Cu<sup>2+</sup>-Cd<sup>2+</sup>(0.0181-0.0181 mg·L<sup>-1</sup>)、Cu<sup>2+</sup>-Cr<sup>6+</sup>(0.0118-0.0118 mg·L<sup>-1</sup>)、Zn<sup>2+</sup>-Cd<sup>2+</sup>(3.475-3.475 mg·L<sup>-1</sup>)二元联合测试液的作用结果显示为拮抗效应,其余二元联合测试液的作用结果则均显示是协同效应。

## 2.3 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>和 Mn<sup>2+</sup> 5种金属对蓼花臂尾轮虫的三元联合急性毒性

表3所示为Cu<sup>2+</sup>等5种金属等毒性和等浓度配比情况下三元联合对蓼花臂尾轮虫24 h的LC<sub>50</sub>值和依据公式(1)判别的联合作用效应。由表可知,等毒性配比的Cu<sup>2+</sup>-Cr<sup>6+</sup>-Mn<sup>2+</sup>(0.00210-5.902-22.981 mg·L<sup>-1</sup>)和等浓度配比的Cu<sup>2+</sup>-Cd<sup>2+</sup>-Mn<sup>2+</sup>(0.00727-0.00727-0.00727 mg·L<sup>-1</sup>)三元联合测试液的作用结果显示为拮抗效应,其余三元联合测试液的作用结果则均显示是协同效应。

## 2.4 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>和 Mn<sup>2+</sup> 5种金属对蓼花臂尾轮虫的四元联合急性毒性

表4所示为Cu<sup>2+</sup>等5种金属等毒性和等浓度配比情况下四元联合对蓼花臂尾轮虫24 h LC<sub>50</sub>值和依据公式(1)判别的联合作用效应。由表可见,等浓度配比的Cu<sup>2+</sup>-Zn<sup>2+</sup>-Cd<sup>2+</sup>-Cr<sup>6+</sup>(0.00907-0.00907-0.00907-0.00907 mg·L<sup>-1</sup>)、Cu<sup>2+</sup>-Zn<sup>2+</sup>-Cd<sup>2+</sup>-Mn<sup>2+</sup>(0.00898-0.00898-0.00898-0.00898 mg·L<sup>-1</sup>)、Cu<sup>2+</sup>-Zn<sup>2+</sup>-Cr<sup>6+</sup>-Mn<sup>2+</sup>(0.00819-0.00819-0.00819-0.00819 mg·L<sup>-1</sup>)四元联合测试液的作用结果显示为拮抗效应,其余四元联合测试液的作用结果则均显示是协同效应。

## 2.5 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>和 Mn<sup>2+</sup> 5种金属对蓼花臂尾轮虫的五元联合急性毒性

表5所示为Cu<sup>2+</sup>等5种金属等毒性和等浓度配比情况下五元联合对蓼花臂尾轮虫24 h的LC<sub>50</sub>值和依据公式(1)判别的联合作用效应。由表可见,Cu<sup>2+</sup>-Zn<sup>2+</sup>-Cd<sup>2+</sup>-Cr<sup>6+</sup>-Mn<sup>2+</sup>等毒性(0.00074-1.520-0.348-2.082-8.107 mg·L<sup>-1</sup>)和等浓度(0.00582-0.00582-0.00582-0.00582-0.00582 mg·L<sup>-1</sup>)配比的五元联合测试液作用结果均显示是协同效应。

## 3 讨论 (Discussion)

该5种重金属中,除Mn<sup>2+</sup>以外,其余4种重金属对蓼花臂尾轮虫的单一急性毒性均已有报道<sup>[13-15]</sup>,所得结果不尽相同。Snell等<sup>[13]</sup>采用休眠卵萌发获取受试个体(龄长2 h内的幼体),实验得到的Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>和Cd<sup>2+</sup>对蓼花臂尾轮虫的24 h LC<sub>50</sub>分别为0.026 mg·L<sup>-1</sup>、1.3 mg·L<sup>-1</sup>和0.81 mg·L<sup>-1</sup>;赵含英等<sup>[14]</sup>从预培养体系中随机吸取不带卵的个体,实验期间投喂1.0×10<sup>6</sup> cell·mL<sup>-1</sup>的蛋白核小球藻,得到的Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>和Cd<sup>2+</sup>对蓼花臂尾轮虫的24 h LC<sub>50</sub>分别为0.06 mg·L<sup>-1</sup>、1.69 mg·L<sup>-1</sup>和1.49 mg·L<sup>-1</sup>;Sarma等<sup>[15]</sup>选取的也是轮虫幼体(具体龄长没有标明),实验期间不投喂食物,得到的Cd<sup>2+</sup>和Cr<sup>6+</sup>对蓼花臂尾轮虫的24 h LC<sub>50</sub>分别为0.18 mg·L<sup>-1</sup>和17.4 mg·L<sup>-1</sup>。笔者认为实验条件的不同,如龄长、喂食与否等,是导致实验结果不尽相同的主要原因。但是,无论差异多大,该几种金属对轮虫的毒性的大小顺序的结论基本是一致的,即Cu<sup>2+</sup>>Cd<sup>2+</sup>>Zn<sup>2+</sup>>Cr<sup>6+</sup>。Mn<sup>2+</sup>对蓼花臂尾轮虫的LC<sub>50</sub>值明显大于上述4个重金属,因此,它对蓼花臂尾轮虫的毒性是这5种金属中最小的。

在单一污染物暴露下,毒物对生物体的毒性效应基本上决定于毒物本身的理化性质和暴露时的浓

表1 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>和 Mn<sup>2+</sup>对蓼花臂尾轮虫24 h的单一毒性

Table 1 The 24 h single toxicity of Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup>, and Mn<sup>2+</sup> to *Brachionus calyciflorus*

金属 Metal	半数致死浓度/(mg·L <sup>-1</sup> ) LC <sub>50</sub> /(mg·L <sup>-1</sup> )	回归方程 Regressive equation	相关系数 Correlation coefficient R <sup>2</sup>	显著性检验 Significant test
Cu <sup>2+</sup>	0.00616 (0.00524~0.00702)	y=4.9285x+0.8120	0.9791	P < 0.05
Zn <sup>2+</sup>	12.62 (11.35~13.99)	y=5.4098x-0.8914	0.8308	P < 0.05
Cd <sup>2+</sup>	2.89 (2.51~3.22)	y=3.3129x+3.5896	0.9823	P < 0.01
Cr <sup>6+</sup>	17.29 (15.59~19.16)	y=5.1992x-1.4343	0.9905	P < 0.01
Mn <sup>2+</sup>	67.32 (61.36~74.99)	y=4.1297x-2.5111	0.9769	P < 0.01

表2  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Mn}^{2+}$ 二元混合物对萼花臂尾轮虫24 h的联合毒性  
 Table 2 The 24 h combined toxicity of binary mixture of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ , and  $\text{Mn}^{2+}$  to *Brachionus calyciflorus*

金属 Metal	联合比例 Combined ratio	半数致死浓度/( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) $\text{LC}_{50}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	S	AI	作用 Action
$\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Zn}^{2+}$	Toxicity 1:1	0.00129 (0.00086~0.00197)	0.42	1.381	Synergism
	Concentration 1:1	0.0199 (0.0157~0.0277)	3.226	-2.226	Antagonism
$\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$	Toxicity 1:1	0.000296 (0.000162~0.000418)	0.096	9.417	Synergism
	Concentration 1:1	0.0181 (0.0130~0.0311)	2.945	-1.945	Antagonism
$\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cr}^{6+}$	Toxicity 1:1	0.00385 (0.00254~0.00628)	1.25	-0.25	Antagonism
	Concentration 1:1	0.0118 (0.0099~0.0140)	1.920	-0.920	Antagonism
$\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Mn}^{2+}$	Toxicity 1:1	0.00126 (0.00079~0.00207)	0.41	1.439	Synergism
	Concentration 1:1	0.00524 (0.00428~0.00631)	0.851	0.175	Synergism
$\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$	Toxicity 1:1	2.398 (1.646~3.567)	0.38	1.632	Synergism
	Concentration 1:1	3.475 (3.210~3.765)	1.478	-0.478	Antagonism
$\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Cr}^{6+}$	Toxicity 1:1	1.704 (1.305~2.168)	0.27	2.704	Synergism
	Concentration 1:1	2.23 (1.995~2.495)	0.306	2.271	Synergism
$\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Mn}^{2+}$	Toxicity 1:1	1.767 (0.851~3.218)	0.28	2.571	Synergism
	Concentration 1:1	2.935 (2.495~3.465)	0.276	2.621	Synergism
$\text{Cd}^{2+}$ - $\text{Cr}^{6+}$	Toxicity 1:1	0.665 (0.452~1.030)	0.46	1.174	Synergism
	Concentration 1:1	1.550 (1.225~1.775)	0.626	0.597	Synergism
$\text{Cd}^{2+}$ - $\text{Mn}^{2+}$	Toxicity 1:1	0.549 (0.364~0.741)	0.38	1.632	Synergism
	Concentration 1:1	1.66 (1.19~2.14)	0.599	0.669	Synergism
$\text{Cr}^{6+}$ - $\text{Mn}^{2+}$	Toxicity 1:1	4.755 (3.430~6.419)	0.55	0.818	Synergism
	Concentration 1:1	8.945 (7.26~11.105)	0.650	0.538	Synergism

表3 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>和 Mn<sup>2+</sup>三元混合物对芎花臂尾轮虫24 h 的联合毒性  
Table 3 The 24 h combined toxicity of ternary mixture of Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup>, and Mn<sup>2+</sup> to *Brachionus calyciflorus*

金属 Metal	联合比例 Combined ratio	半数致死浓度/(mg·L <sup>-1</sup> ) LC <sub>50</sub> /(mg·L <sup>-1</sup> )		S	A/I	作用 Action		
Cu <sup>2+</sup> -Zn <sup>2+</sup> -Cd <sup>2+</sup>	Toxicity 1:1:1	Cu <sup>2+</sup>	0.00058 (0.00040~0.00080)	Zn <sup>2+</sup>	1.196 (0.869~1.604)	0.274 (0.192~0.369)	2.519	Synergism
	Concentration 1:1:1		0.00249 (0.00225~0.00277)		0.00249 (0.00225~0.00277)	0.00249 (0.00225~0.00277)	0.406	Synergism
Cu <sup>2+</sup> -Zn <sup>2+</sup> -Cr <sup>6+</sup>	Toxicity 1:1:1	Cu <sup>2+</sup>	0.00096 (0.00063~0.00147)	Zn <sup>2+</sup>	1.973 (1.365~2.938)	2.702 (1.875~4.024)	0.469	Synergism
	Concentration 1:1:1		0.00405 (0.00327~0.00506)		0.00405 (0.00327~0.00506)	0.00405 (0.00327~0.00506)	0.521	Synergism
Cu <sup>2+</sup> -Zn <sup>2+</sup> -Mn <sup>2+</sup>	Toxicity 1:1:1	Cu <sup>2+</sup>	0.00113 (0.00069~0.00196)	Zn <sup>2+</sup>	2.307 (1.505~3.896)	12.306 (8.134~20.885)	0.548	Synergism
	Concentration 1:1:1		0.00295 (0.00230~0.00371)		0.00295 (0.00230~0.00371)	0.00295 (0.00230~0.00371)	0.480	Synergism
Cu <sup>2+</sup> -Cd <sup>2+</sup> -Cr <sup>6+</sup>	Toxicity 1:1:1	Cu <sup>2+</sup>	0.00120 (0.00073~0.00211)	Cd <sup>2+</sup>	0.565 (0.347~0.968)	3.377 (2.158~5.759)	0.586	Synergism
	Concentration 1:1:1		0.00377 (0.00326~0.00434)		0.00377 (0.00326~0.00434)	0.00377 (0.00326~0.00434)	0.614	Synergism
Cu <sup>2+</sup> -Cd <sup>2+</sup> -Mn <sup>2+</sup>	Toxicity 1:1:1	Cu <sup>2+</sup>	0.00192 (0.00102~0.00385)	Cd <sup>2+</sup>	0.899 (0.487~1.764)	20.937 (11.910~41.090)	0.933	Synergism
	Concentration 1:1:1		0.00727 (0.00573~0.00948)		0.00727 (0.00573~0.00948)	0.00727 (0.00573~0.00948)	1.182	Antagonism
Cu <sup>2+</sup> -Cr <sup>6+</sup> -Mn <sup>2+</sup>	Toxicity 1:1:1	Cu <sup>2+</sup>	0.00210 (0.00155~0.00280)	Cr <sup>6+</sup>	5.902 (4.617~7.652)	22.981 (18.171~29.949)	1.024	Antagonism
	Concentration 1:1:1		0.00613 (0.00562~0.0067)		0.00613 (0.00562~0.00670)	0.00613 (0.00562~0.00670)	0.996	Synergism
Zn <sup>2+</sup> -Cd <sup>2+</sup> -Cr <sup>6+</sup>	Toxicity 1:1:1	Zn <sup>2+</sup>	1.800 (1.250~2.671)	Cd <sup>2+</sup>	0.412 (0.277~0.615)	2.466 (1.717~3.658)	0.428	Synergism
	Concentration 1:1:1		1.530 (1.417~1.660)		1.530 (1.417~1.660)	1.530 (1.417~1.660)	0.739	Synergism
Zn <sup>2+</sup> -Cd <sup>2+</sup> -Mn <sup>2+</sup>	Toxicity 1:1:1	Zn <sup>2+</sup>	1.872 (1.368~2.584)	Cd <sup>2+</sup>	0.429 (0.303~0.595)	9.988 (7.396~13.851)	0.445	Synergism
	Concentration 1:1:1		1.413 (1.138~1.787)		1.413 (1.138~1.787)	1.413 (1.138~1.787)	0.622	Synergism
Zn <sup>2+</sup> -Cr <sup>6+</sup> -Mn <sup>2+</sup>	Toxicity 1:1:1	Zn <sup>2+</sup>	2.611 (1.822~3.943)	Cr <sup>6+</sup>	3.578 (2.503~5.401)	13.931 (9.850~21.137)	0.621	Synergism
	Concentration 1:1:1		2.475 (1.969~3.154)		2.475 (1.969~3.154)	2.475 (1.969~3.154)	0.376	Synergism
Cd <sup>2+</sup> -Cr <sup>6+</sup> -Mn <sup>2+</sup>	Toxicity 1:1:1	Cd <sup>2+</sup>	0.811 (0.478~1.768)	Mn <sup>2+</sup>	4.853 (2.970~10.518)	18.897 (11.689~41.167)	0.842	Synergism
	Concentration 1:1:1		2.003 (1.739~2.320)		2.003 (1.739~2.320)	2.003 (1.739~2.320)	0.839	Synergism

表 4 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>和 Mn<sup>2+</sup>四元混合物对萼花臂尾轮虫 24 h 的联合毒性  
Table 4 The 24 h combined toxicity of quaternary mixture of Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup>, and Mn<sup>2+</sup> to *Brachionus calyciflorus*

金属 Metal	联合比例 Combined ratio	半数致死浓度(mg·L <sup>-1</sup> ) LC <sub>50</sub> /(mg·L <sup>-1</sup> )		S	AI	作用 Action
Cu <sup>2+</sup> -Zn <sup>2+</sup> -	Toxicity 1:1:1	0.00049(0.00034~0.00068)	1.010(0.738~1.364)	0.231(0.163~0.314)	0.32	2.125 Synergism
Cd <sup>2+</sup> -Cr <sup>6+</sup>	Concentration 1:1:1	0.00907(0.00809~0.0103)	0.00907(0.00809~0.0103)	0.00907(0.00809~0.0103)	1.476	-0.476 Antagonism
Cu <sup>2+</sup> -Zn <sup>2+</sup> -	Toxicity 1:1:1	0.00123(0.00077~0.00210)	2.515(1.667~0.963)	0.576(0.369~2.963)	0.797	0.255 Synergism
Cd <sup>2+</sup> -Mn <sup>2+</sup>	Concentration 1:1:1	0.00898(0.00700~0.0121)	0.00898(0.00700~0.0121)	0.00898(0.00700~0.0121)	1.461	-0.461 Antagonism
Cu <sup>2+</sup> -Zn <sup>2+</sup> -	Toxicity 1:1:1	0.00132(0.00083~0.00233)	2.714(1.792~6.360)	3.719(2.462~6.360)	0.860	0.162 Synergism
Cr <sup>6+</sup> -Mn <sup>2+</sup>	Concentration 1:1:1	0.00819(0.00747~0.00896)	0.00819(0.00747~0.00896)	0.00819(0.00747~0.00896)	1.331	-0.331 Antagonism
Cu <sup>2+</sup> -Cd <sup>2+</sup> -	Toxicity 1:1:1	0.00042(0.00029~0.00059)	0.197(0.141~0.269)	1.180(0.875~1.603)	0.273	2.662 Synergism
Cr <sup>6+</sup> -Mn <sup>2+</sup>	Concentration 1:1:1	0.00560(0.00489~0.00640)	0.00560(0.00489~0.00640)	0.00560(0.00489~0.00640)	0.911	0.098 Synergism
Zn <sup>2+</sup> -Cd <sup>2+</sup> -	Toxicity 1:1:1	1.524(1.157~2.050)	0.349(0.256~0.472)	2.088(1.589~2.807)	0.483	1.070 Synergism
Cr <sup>6+</sup> -Mn <sup>2+</sup>	Concentration 1:1:1	1.470(1.155~1.993)	1.470(1.155~1.993)	1.47(1.155~1.993)	0.732	0.366 Synergism

表 5 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>和 Mn<sup>2+</sup>五元混合物对萼花臂尾轮虫 24 h 的联合毒性  
Table 5 The 24 h combined toxicity of pentabasic mixture of Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup>, and Mn<sup>2+</sup> to *Brachionus calyciflorus*

金属 Metal	联合比例 Combined ratio	半数致死浓度(mg·L <sup>-1</sup> ) LC <sub>50</sub> /(mg·L <sup>-1</sup> )		S	AI	作用 Action
Cu <sup>2+</sup> -Zn <sup>2+</sup> -Cd <sup>2+</sup> -Cr <sup>6+</sup> -Mn <sup>2+</sup>	Toxicity 1:1:1:1	0.00074	1.520	0.348	2.082	8.107
		0.00058	1.255	0.278	1.724	6.786
Cu <sup>2+</sup> -Zn <sup>2+</sup> -Cd <sup>2+</sup> -Cr <sup>6+</sup> -Mn <sup>2+</sup>	Concentration 1:1:1:1	~0.00092)	~1.835)	~0.422)	~2.513)	~9.836)
		0.00582	0.00582	0.00582	0.00582	0.00582
Cu <sup>2+</sup> -Zn <sup>2+</sup> -Cd <sup>2+</sup> -Cr <sup>6+</sup> -Mn <sup>2+</sup>	Concentration 1:1:1:1	0.00485	0.00485	0.00485	0.00485	0.00485
		~0.00704	~0.00704)	~0.00704)	~0.00704)	~0.00704)

度水平<sup>[21]</sup>。在复合污染的条件下,除了混合物组成各成分的理化性质以外,各组分的浓度也起到了至关重要的作用<sup>[3]</sup>。但是,到底是各成分的污染物浓度还是混合物浓度配比关系决定了混合物联合作用的毒性还有争论。周启星等<sup>[22]</sup>认为污染物本身的化学性质对复合污染生态效应所起的作用,要比其浓度组合关系的影响小得多,污染物暴露的浓度组合关系对毒性的影响更为直接,在一定条件下甚至起决定作用。但是,纵观本研究的结果,在多元联合毒性测试的26组(二元组合10组,三元组合10组,四元组合5组,五元组合1组)中,有18组在等浓度和等毒性不同配比时表现出来的联合毒性效应是一致的,即浓度组合关系(等毒性和等浓度实质上就是混合物各组分浓度组合关系的不同)的变动在多数情况下并未造成联合毒性效应的变化。因此,污染物暴露的浓度组合关系在联合毒性效应评价中的作用可能还要依具体情况而定,不可一概而论。

本研究中,  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$ - $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$ - $\text{Cr}^{6+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$ - $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Cr}^{6+}$ - $\text{Mn}^{2+}$ 等测试组等毒性对比对萼花臂尾轮虫的联合毒性作用是协同效应,等浓度配比则是拮抗效应。如果不考虑混合物中金属之间可能发生的物理化学作用,等毒性配比时,各组成成分具有相同的急性致死效应,最终联合毒性表现为协同或者相加效应不难理解;而等浓度配比时,混合物的浓度主要由毒性较大的重金属决定,而毒性较小的重金属往往处于一个较低的浓度水平,这时它们会表现出何种毒性效应将决定最终混合物联合毒性效应。研究发现,低浓度水平的重金属如  $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 等对萼花臂尾轮虫并无急性致死作用,有时甚至会发生类似毒物兴奋效应(hormesis)——刺激轮虫种群增长的现象<sup>[5,23]</sup>。所以,等浓度配比时,一种情况是处于较低浓度的毒性较小的重金属依然表现出了一定急性致死作用,那么最终混合物联合毒性效应将会是协同效应;相反,如果它们表现出不影响甚至刺激轮虫生长的作用时,最终混合物联合毒性效应则很可能就会是拮抗效应。因此我们认为,上述测试组在等浓度配比时各组分表现出来毒性作用不相一致,并最终导致了拮抗效应的出现。

资料显示,复合污染中的协同效应是各毒物之间联合作用的主要表现形式<sup>[24]</sup>。本研究中,协同作用共有42例,拮抗作用10例,分别占总数的81%和19%,协同作用占大多数。研究发现,混合物中

各组分作用机理和作用位点的差异会导致联合毒性效应的不同<sup>[25-26]</sup>。同时,重金属会在生物体不同的组织部位积累,重金属与重金属之间、重金属与生物体内各种组分之间都有可能发生不同的交互作用,导致不同的生态毒理效应<sup>[22]</sup>。虽然目前还没有该5种重金属对轮虫致毒机理的报道,但如前所述,该5种重金属分属不同类别,有理由相信它们对轮虫的毒性作用机理会存在差异,据此我们推测,该5种重金属对轮虫致毒机理的差异是导致混合物联合毒性效应不同的根本原因。其次,我们认为,混合物(特别是3元以上混合物)中,各组分对最终呈现的毒性效应的贡献是不一样的,在出现协同效应的处理组中,毒性贡献大的组分之间在其对轮虫致毒过程中应该是相互不干扰的,或者至少它们之间没有发生相互抑制或竞争作用位点的效应;相反,拮抗效应的出现则意味着这该组混合物中,起决定作用的组分在对轮虫致毒过程中出现了不相一致的毒性效应(如前所述),或者类似竞争作用位点情况,例如共存的金属离子导致了对方作用位点的可结合性降低,从而减弱了对方的毒性<sup>[27]</sup>。在某一混合物处理组中,究竟是哪一个或哪一些组分发挥的毒性作用贡献大,各组分在最终毒性效应中的作用分别是怎样的,是非常值得进一步研究的,这对阐释混合物联合毒性效应的机理非常关键。

除了配比方式以外,暴露时间的不同和测试物种的不同也可能影响重金属联合毒性作用的评判结果<sup>[28]</sup>。研究表明,随着等毒性配比的  $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$  联合作用时间的延长,其对斑马鱼(*Brachydanio rerio*)的联合急性毒性是先协同后拮抗<sup>[29]</sup>,而对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)则是先拮抗后协同<sup>[30]</sup>,本研究中,由于实验过程中是不添加食物的,而轮虫的耐饥饿时间较短,为了避免饥饿的影响,因此没有延长暴露时间进行研究。一般说来,就单一金属暴露而言,生物体与毒物接触的时间越长,其受到的伤害也就越大<sup>[31]</sup>。但是,暴露时间的延长是否会影响多金属对轮虫的联合急性毒性效应还需要开展进一步的研究验证。等浓度的  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$  对于萼花臂尾轮虫产生的是拮抗效应(本研究),对大型溞(*Daphnia magna*)却均是协同效应<sup>[32-33]</sup>;同样,等浓度的  $\text{Zn}^{2+}$ - $\text{Cd}^{2+}$  对于萼花臂尾轮虫产生的是拮抗效应(本研究),对水螅(*Hydra* sp.)产生的却是协同效应<sup>[34]</sup>,测试生物不同带来的联合效应的差异可以理解为:不同的生物的具有不同的生理结构、代谢途径和应激反



应系统,使得不同生物种类面临同一类型的复合污染胁迫,产生了不同的生态毒理效应<sup>[22]</sup>。

综上所述,可以得出以下结论:(1) $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Mn}^{2+}$ 等5种重金属对蓼花臂尾轮虫24h单一急性毒性大小依次: $\text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Cr}^{6+} > \text{Mn}^{2+}$ ; (2)多数情况下,相同组分等毒性和等浓度配比对轮虫的联合毒性效应是一致的,少数组出现差异的原因是由于混合物中不同组分产生的毒性效应不相一致所致;(3)协同效应是联合毒性效应的主要表现形式,各组分对轮虫致毒机理的差异可能是导致混合物产生不同联合毒性效应的根本原因。因此,对于致毒机理不尽相同的重金属混合物而言,在评价其联合毒性效应时都需进行具体的实验研究后方可定论,不能简单由单一金属毒性相加来判断其毒性<sup>[29,35]</sup>。此外,本研究得出的 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Mn}^{2+}$ 等5种常见金属对蓼花臂尾轮虫的联合毒性数据,特别是有 $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Mn}^{2+}$ 参与的联合毒性结果乃是首次得出,不仅丰富了轮虫生态毒理学研究的基础资料,同时也为开展评价水体重金属复合污染的生态风险提供了理论数据和科学参考。

**通讯作者简介:**席贻龙(1965-),男,理学博士,教授,主要研究方向为浮游动物生态和水生态毒理学,发表学术论文140余篇。

#### 参考文献(References):

- [1] 王学锋,朱桂芬. 重金属污染研究新进展[J]. 环境科学与技术, 2003, 26(1): 54-56  
Wang X F, Zhu G F. Recent progress in studies of heavy metals pollution [J]. Environmental Science and Technology, 2003, 26(1): 54-56 (in Chinese)
- [2] 郑振华,周培疆,吴振斌. 复合污染研究的新进展[J]. 应用生态学报, 2001, 12(3): 469-473  
Zheng Z H, Zhou P J, Wu Z B. New advances in research of combined pollution [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2001, 12(3): 469-473 (in Chinese)
- [3] Norwood W P, Borgmann U, Dixon D G, et al. Effects of metal mixtures on aquatic biota: A review of observations and methods [J]. Human and Ecological Risk Assessment, 2003, 9(4): 795-811
- [4] Wallace R L, Snell T W. Phylum Rotifera [M]// Thorp J H, Covich A P. Eds. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. San Diego, CA: Academic Press, 2001: 195-254
- [5] Xu X P, Xi Y L, Huang L, et al. The life table demographic response of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* to multi-metal (Cu, Zn, Cd, Cr, and Mn) mixture interaction [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2014, 93: 165-170
- [6] 徐吉祥,张文萍,李少南,等. 蓼花臂尾轮虫毒性试验的方法学研究[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(2): 346-352  
Xu J X, Zhang W P, Li S N, et al. Research on toxicity test method for *Brachionus calyciflorus* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(2): 346-352 (in Chinese)
- [7] Dahms H U, Hagiwara A, Lee J S. Ecotoxicology, ecophysiology, and mechanistic studies with rotifers [J]. Aquatic Toxicology, 2011, 101: 1-12
- [8] American Society for Testing and Material (ASTM). Standard Guide for Acute Toxicity Tests with the Rotifer *Brachionus*. Annual Book of ASTM Standards [S]. Philadelphia, PA, USA: ASTM, 1991: E1440-91
- [9] Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Detailed Review Paper on Aquatic Arthropods in Life-cycle Toxicity Tests with An Emphasis on Developmental, Reproductive and Endocrine Disruptive Effects [M]. Paris: OECD, 2006: 125
- [10] 张融,范文宏,唐戈,等. 水体中重金属镉和锌对大型蚤联合毒性效应的初步研究[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(3): 286-290  
Zhang R, Fan W H, Tang G, et al. A preliminary study on joint toxic effects of Cd and Zn on *Daphnia magna* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2008, 3(3): 286-290 (in Chinese)
- [11] 宋志慧,王庆伟.  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 和 $\text{Cr}^{6+}$ 对斑马鱼联合毒性作用和生物预警的研究[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(4): 361-366  
Song Z H, Wang Q W. Study on joint toxicity and biological early warning of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$  using zebrafish [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2011, 6(4): 361-366 (in Chinese)
- [12] 刘华,刘可慧,周振明,等. Mn、Zn单一及复合污染对水蓼氮素代谢的影响[J]. 生态环境学报, 2015, 24(3): 517-521  
Liu H, Liu K H, Zhou Z M, et al. Effects of Mn/Zn single and combined pollution on the nitrogen metabolism in *Polygonum hydropiper L* [J]. Ecology and Environment Sciences, 2015, 24(3): 517-521 (in Chinese)
- [13] Snell T W, Moffat B D, Janssen C R, et al. Acute toxicity tests using rotifers: IV. Effects of cyst age, temperature, and salinity on the sensitivity of *Brachionus calyciflorus* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1991, 21(3): 308-317
- [14] 赵含英,杨家新,陆正和,等.  $\text{Cu}^{2+}$ 对蓼花臂尾轮虫的毒性影响[J]. 南京师大学报:自然科学版, 2002, 25(4): 81-85  
Zhao H Y, Yang J X, Lu Z H, et al. The toxic effect of

- Cu<sup>2+</sup> on rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. Journal of Nanjing Normal University: Natural Science Edition, 2002, 25(4): 81-85 (in Chinese)
- [15] Sarma S S S, Martínez-Jerónimo F, Ramírez-Pérez T, et al. Effect of cadmium and chromium toxicity on the demography and population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera) [J]. Journal of Environmental Science and Health Part A, Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering, 2006, 41(4): 543-558
- [16] United States Environmental Protection Agency (US EPA). Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms (Fifth Edition) [R]. Washington DC: Office of Water, Office of Science and Technology, 2002
- [17] 章宗涉, 黄祥飞. 淡水浮游生物研究方法[M]. 北京: 科学出版社, 1991: 410-411
- [18] Wang X M, Chu Z X, Zha F G, et al. Determination of heavy metals in water and tissue of crucian carp (*Carassius auratus* Gibelio) collected from subsidence pools in Huainan coal fields (China) [J]. Analytical Letters, 2015, 48: 861-877
- [19] 修瑞琴, 许永香, 付迎春, 等. 水生毒理联合效应相加指数法[J]. 环境化学, 1994, 13(3): 269-271
- Xiu R Q, Xu Y X, Fu Y C, et al. Additive index of coefficients for aquatic toxicology [J]. Environmental Chemistry, 1994, 13(3): 269-271 (in Chinese)
- [20] Making L L. An Approach for Additive Toxicity of Chemical Mixtures. Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation [M]. Philadelphia: ASTM STP Publication, 1977: 99-108
- [21] 熊治廷. 环境生物学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 85-92
- [22] 周启星, 程云, 张倩茹, 等. 复合污染生态毒理效应的定量关系分析[J]. 中国科学 C 辑, 2003, 33(6): 566-573
- [23] 赵清清, 席貽龙, 李志超, 等. 不同藻密度下 Zn<sup>2+</sup> 浓度对萼花臂尾轮虫实验种群增长参数的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(12): 4026-4033
- Zhao Q Q, Xi Y L, Li Z C, et al. Effects of Zn<sup>2+</sup> concentration on population growth parameters of *Brachionus calyciflorus* under different *Scenedesmus obliquus* densities [J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(12): 4026-4033
- [24] Altenburger R, Backhaus T, Boedeker W, et al. Simplifying complexity: Mixture toxicity assessment in the last 20 years [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2013, 32(8): 1685-1687
- [25] Yang R, Li N, Ma M, et al. Combined effects of estrogenic chemicals with the same mode of action using an estrogen receptor binding bioassay [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2014, 38(3): 829-837
- [26] Yang R, Li N, Rao K, et al. Combined action of estrogen receptor agonists and antagonists in two-hybrid recombinant yeast in vitro [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015, 111: 228-235
- [27] Vranken G, Tire C, Heip C. The toxicity of paired metal mixtures to the nematode *Monhystera disjuncta* (Bastian, 1865) [J]. Marine Environmental Research, 1988, 26(3): 161-179
- [28] 苏永红, 唐柱云, 曾科. 重金属联合毒性研究进展[J]. 现代农业科技, 2007, 10: 174-175
- [29] 修瑞琴, 许永香, 高世荣, 等. 砷与镉、锌离子对斑马鱼的联合毒性实验[J]. 中国环境科学, 1998, 18(4): 349-352
- Xiu R Q, Xu Y X, Gao S R, et al. Joint toxicity test of arsenic with cadmium and zinc ions to zebrafish, *Brachydanio rerio* [J]. China Environmental Science, 1998, 18(4): 349-352 (in Chinese)
- [30] 华涛, 周启星. Cd-Zn 对草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 的联合毒性及对肝脏超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响[J]. 环境科学学报, 2009, 29(3): 600-606
- Hua T, Zhou Q X. Joint toxic effects of Cd and Zn on grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) and SOD activity in livers [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2009, 29(3): 600-606 (in Chinese)
- [31] Tao S, Liang T, Cao J, et al. Synergistic effect of copper and lead uptake by fish [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1999, 44(2): 190-195
- [32] 董晓晓, 刘腾腾, 孔强, 等. Cu<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>和 Se<sup>4+</sup>对大型溞的单一及联合毒性效应[J]. 山东科学, 2012, 25(2): 38-43
- Dong X X, Liu T T, Kong Q, et al. Individual and combine toxicity of Cu<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, and Se<sup>4+</sup> to *Daphnia magna* [J]. Shandong Science, 2012, 25(2): 38-43 (in Chinese)
- [33] 丁娟娟, 付荣恕. Cu<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>和 Zn<sup>2+</sup>对大型溞的单一及联合毒性效应[J]. 山东师范大学学报: 自然科学版, 2013, 28(1): 137-140
- Ding C J, Fu R S. Individual toxicity and joint toxicity of copper, lead, and zinc ion to *Daphnia magna* [J]. Journal of Shandong Normal University: Nature Science, 2013, 28(1): 137-140 (in Chinese)
- [34] 王莹, 郝家胜, 陈娜, 等. 铅、镉和锌 3 种重金属离子对水螅的联合毒性研究[J]. 生命科学研究, 2006, 10(1): 91-94
- Wang Y, Hao J S, Chen N, et al. Joint toxicity test of heavy metal ions lead, cadmium and zinc to *Hydra* sp [J]. Life Science Research, 2006, 10(1): 91-94 (in Chinese)
- [35] Eaton J G. Chronic toxicity of a copper, cadmium and zinc mixture to the fathead minnow (*Pimephales promelas* Rafinesque) [J]. Water Research, 1973, 7(11): 1723-1736 ◆