

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20181101001

王晶, 庄昀筠, 陈洪举, 等. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐对海洋桡足类日本虎斑猛水蚤的急慢性毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(5): 202-211 Wang J, Zhuang Y Y, Chen H J, et al. Acute and chronic toxicity of emamectin benzoate on marine copepod *Tigriopus japonicus* Mori [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(5): 202-211 (in Chinese)

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐对海洋桡足类日本虎斑猛水 蚤的急慢性毒性效应

王晶1, 庄昀筠12, 陈洪举12, 陈畅1, 毛雪微1, 刘光兴12.*

中国海洋大学环境科学与工程学院,青岛 266100
 青岛海洋科学与技术国家实验室,海洋生态与环境科学功能实验室,青岛 266200
 收稿日期:2018-11-01
 录用日期:2019-05-27

摘要:甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(简称甲维盐)是一种广泛应用于农业和水产养殖业的高效抗生素杀虫剂,会进入近海海洋环境 从而对海洋生物造成影响。为初步探讨甲维盐对海洋桡足类产生的生物效应,研究了甲维盐对日本虎斑猛水蚤(*Tigriopus japonicus* Mori)的死亡率、摄食率、滤水率、神经传导关键性酶和抗氧化防御系统中多种酶活性以及生殖、发育的影响。结果显示, 甲维盐对于日本虎斑猛水蚤有显著的急性毒性影响,雌性成体和雄性成体的 96 h-LC₅₀ 分别为 7 156 μg·L⁻¹和 3 637 μg·L⁻¹;雌 性成体的 24 h-EC₅₀ 为 3.5 μg·L⁻¹。暴露在不同甲维盐浓度(0.5、1、2、3.5 和 5 μg·L⁻¹)条件下 24 h 后,日本虎斑猛水蚤的摄食率和 滤水率随甲维盐浓度升高逐渐降低,乙酰胆碱酯酶(AchE)活性、抗氧化酶超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活 性均随甲维盐浓度的升高先升高后趋于平稳,而过氧化氢酶(CAT)活性无显著变化。日本虎斑猛水蚤连续暴露 2 个世代,随着甲 维盐浓度的升高,发育率逐渐降低;当甲维盐浓度达到 0.5 μg·L⁻¹时,10 d 产卵量受到显著抑制,这说明甲维盐对其种群繁衍能 力产生了显著影响。将第 3 代无节幼虫置于海水中进行恢复培养后发现,高浓度甲维盐暴露(0.5 μg·L⁻¹)对日本虎斑猛水蚤发育 和生殖均造成了不可逆的影响,毒性可能具有不可恢复性。本文可为评估甲维盐对海洋桡足类的潜在影响提供基础数据和 依据。

关键词:甲维盐;日本虎斑猛水蚤;急性毒性,慢性毒性;桡足类 文章编号:1673-5897(2019)5-202-10 中图分类号:X171.5 文献标识码:A

Acute and Chronic Toxicity of Emamectin Benzoate on Marine Copepod *Tigriopus japonicus* Mori

Wang Jing¹, Zhuang Yunyun^{1,2}, Chen Hongju^{1,2}, Chen Chang¹, Mao Xuewei¹, Liu Guangxing^{1,2,*}

1. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China

2. Marine Ecology and Environmental Science Laboratory, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266200, China

Received 1 November 2018 accepted 27 May 2019

Abstract: Emamectin benzoate (EMB) is an effective pesticide widely used in agriculture and aquaculture, which could enter the coastal environment and potentially affect marine organisms. To investigate the effects of EMB on

基金项目:国家自然科学基金项目(31372509,31502167)

作者简介:王晶(1994—),女,硕士生,研究方向为海洋生态毒理学,E-mail: crystalwang_94@foxmail.com

^{*} 通讯作者(Corresponding author), E-mail: gxliu@ouc.edu.cn

203

the marine copepods, the acute and the chronic toxicity of EMB were studied on *Tigriopus japonicus* Mori, of which the mortality, ingestion and the activities of enzymes related to antioxidation and neurotransmission were measured. Acute toxicity assay of EMB showed that, the 96 h-LC₅₀ was 7 156 μ g·L⁻¹ and 3 637 μ g·L⁻¹ for adult females and males respectively, and 24 h-EC₅₀ was 3.5 μ g·L⁻¹ for adult females. Upon the 24 h exposure to EMB at concentrations of 0.5, 1, 2, 3.5 and 5 μ g·L⁻¹, the feeding and filtration rate of *T. japonicus* decreased with increasing EMB concentration. The activities of antioxidant enzymes, i.e., superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx), and the activity of the enzyme related to neurotransmission acetylcholinesterase (AchE) increased with increasing EMB concentration, peaked at 3.5 μ g·L⁻¹, 1 μ g·L⁻¹ and 3.5 μ g·L⁻¹ respectively and remained stable afterwards. However, the activity of antioxidant enzyme catalase (CAT) showed no significant change with EMB concentrations. For chronic toxicity test, *T. japonicus* were exposed to different sublethal concentrations of EMB for two successive generations (F1 and F2) and subsequently all the treatments were recovered in seawater for one generation (F3). The developmental rate decreased with increasing EMB concentrations and 10 day fecundity was significantly reduced at the highest tested concentration (0.5 μ g·L⁻¹), which failed to recover in the third generation (F3) raised in seawater. The results shed light on the effects of EMB on marine benthic copepods and provided basic information for the ecological risks assessment of EMB.

Keywords: emamectin benzoate; Tigriopus japonicus Mori; acute toxicity; chronic toxicity; copepods

有研究表明,阿维菌素通过抑制无脊椎动物的 神经传导引起其麻痹和死亡[1-3],以阿维菌素为基础 半合成的甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(简称甲维盐, emamectin benzoate, EMB)是一种新型的杀虫剂,由 于低毒、高效等特点,被广泛用于农业和水产养殖 业。甲维盐对于作物害虫如鳞翅目(Lepidoptera)、鞘 翅目(Coleoptera)等具有良好的杀灭作用^[4-5]。在水 产养殖上,甲维盐作为鱼类饲料添加剂用于去除大 西洋鲑鱼(Salmo salar)、大麻哈鱼(Oncorhynchus keta)身上的寄生性桡足类,包括鲑疮痂鱼虱(Lepeophtheirus salmonis)、智利鱼虱(Caligus rogercresseyi) 等[6-7]。2002—2015年,苏格兰的鲑鱼产量增加1 倍,而甲维盐的用量增加了5倍^{18]}。甲维盐随鱼粪 和饲料进入海洋环境后,沉降进入沉积物⁹⁹。在沉 积物中,其降解速率大大减缓,并随时间推移逐步扩 散进入水体[10-11]。在水/沉积物系统中,甲维盐会长 期存在,半衰期可超过120 d^[10]。这很可能对其他水 生生物造成毒害作用,进而影响种群动态、群落结构 及食物网功能。

桡足类是海洋食物链中重要的次级生产者和饵料基础,对于维持海洋生态系统的平衡与稳定具有 至关重要的作用^[12-13]。海洋桡足类有的营自由生 活,也有的营寄生生活。甲维盐既然可以有效杀灭 寄生性桡足类,那是否也会影响到营自由生活的桡 足类?目前已有的相关研究较少,Willis和 Ling^[14] 评估了甲维盐对4种海洋浮游桡足类的急性和亚致 死毒性影响,衣晓燕^[15]在个体和分子水平上研究了 甲维盐对火腿伪镖水蚤(*Pseudodiaptomus poplesia*) 的毒性作用。

本研究以营自由生活的桡足类——日本虎斑猛 水蚤(*Tigriopus japonicus* Mori)为对象,研究不同浓 度甲维盐暴露对其产生的急性毒性效应(包括半数 致死浓度、半数效应浓度、摄食率以及各生化指标变 化)和慢性毒性效应(包括发育时间、发育率和 10 d 产卵量),为评估甲维盐对海洋桡足类的潜在影响提 供数据支持和科学依据。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 桡足类的采集与驯化

日本虎斑猛水蚤采自青岛市鲁迅公园潮间带, 由中国海洋大学海洋生命学院底栖生物实验室提 供。驯养条件为:盐度 30,温度 20 ℃,光照 12 h(L) :12 h(D)。饵料为三角褐指藻(*Phaeodactylum tricomutum*)(4.0×10^4 cells·mL⁻¹)、青岛大扁藻(*Platymonas helgolandica* var. *tsingtaoensis*)(4.0×10^4 cells·mL⁻¹)和 酵母(2.0×10^4 cells·mL⁻¹)的混合。培养用海水取自 青岛沙子口近海,经 0.45 µm 微孔滤膜过滤,高温高 压灭菌后使用。

1.2 甲维盐溶液的配制

称取纯度为99.4%的甲维盐(PESTANAL[®] Sigma-Aldrich, USA),将其溶于二甲基亚砜(dimethyl sulphoxide, DMSO)(国药集团化学试剂有限公司), 配制成 20 g·L⁻¹的贮存液,于4 ℃ 避光保存。 1.3 急性毒性实验

1.3.1 半数致死浓度

实验设定不同甲维盐浓度组(雌性 1 000、2 000、 4 000、6 000、8 000、10 000 和 20 000 μg·L⁻¹,雄性 100、800、1 000、1 600、2 000、3 000、3 200、4 000、6 400 和 12 800 μg·L⁻¹),1 个海水对照组和 1 个 DMSO 溶剂对照组。每组设 3 个平行,每个平行 10 只个 体,置于 100 mL 烧杯。饵料为青岛大扁藻,投喂终 浓度为 1×10⁵ cells·mL⁻¹,温度、盐度和光照与驯化 条件—致,48 h 换水(50%)一次。记录 24、48、72 和 96 h 的死亡率。以解剖针轻触桡足类无反应且其 体内肠道无蠕动活动,视为死亡。

1.3.2 半数效应浓度

挑选雌性日本虎斑猛水蚤成体,实验浓度组设 置为0.5、1、2、3.5 和5 μg·L⁻¹,其他设置同半数致死 浓度实验。观察 24 h 桡足类的状态,记录个体效 应情况。以桡足类趴在烧杯底超过10 s,仅在解剖 针轻触刺激下才活动并且活动能力较弱为产生个 体效应。

1.4 摄食实验

挑选挂卵雌性成体,暴露在不同浓度甲维盐溶 液(0.5、1、2、3.5 和 5 μg·L⁻¹)中,作为实验组。另设 置1个对照组和1个溶剂对照组。每组3个平行, 每个平行放置10只个体于100 mL 蓝色丝口瓶。投 喂对数生长期的青岛大扁藻,稀释至终浓度1.0×10⁵ cells·mL⁻¹。用铝箔包裹瓶身,放于恒温培养箱中, 每8h缓慢颠倒摇晃丝口瓶。培养24h后,将藻液 用鲁哥氏液固定,用 Sedgewick-Rafte 浮游植物计数 框计数。使用 Frost 公式计算摄食率和滤水率^[16]。

1.5 生化指标

将挂卵雌性成体暴露于不同浓度甲维盐(0.5、 1、2、3.5和5 μ g·L⁻¹)24h,测定日本虎斑猛水蚤的 过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)活性以及乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)。另外,实验设置1个对照 组和1个溶剂对照组。每个100 mL 烧杯放置100 只个体,设置3组平行。恒温培养24h后,随机取 80 只装入1.5 mL 离心管中,加入0.9%的生理盐水, 用小杵研磨至未见明显组织块,获得组织匀浆液。 将匀浆液在2500 r·s⁻¹的转速下离心10 min,取上 清液,用试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定 CAT 活性、SOD 活性、GPx 活性和 AChE 活性,用于 测定以上指标所用的组织匀浆液浓度分别为 5%、 1% 、1% 和 10%。

1.6 慢性毒性实验

在日本虎斑猛水蚤无节幼虫孵化后 24 h 内, 挑选活跃的个体暴露在不同浓度的甲维盐溶液中 (0.025、0.05、0.25、0.5 和 2.5 µg·L⁻¹),作为实验组; 同时设置1个对照组和溶剂对照组,每组设3个平 行。连续暴露 2 代标记为 F1、F2,将 F2 挂卵雌性 成体放入无毒的海水中孵化,将产出的无节幼体 标记为 F3,在海水中"恢复"培养。每10 只无节 幼虫培养在六孔培养板盛有8mL 膜滤海水的小 孔中,桡足幼体转移到 50 mL 烧杯。每 48 小时更 换50%体积的培养液,饵料、温度和盐度等实验条 件与急性毒性实验相同。记录个体的存活和发育 状况、每阶段发育时间。将每组成功发育个体的 发育时间加权平均,作为该组在该阶段的发育时 间。将挂卵雌性投入至六孔培养板中,每孔1只, 每个平行组取6只,培养10d,记录产卵次数和每 批次产卵量[17]。

1.7 数据处理

回归分析使用 Origin 8.5(OriginLab, USA),获得 96 h-LC₅₀、24 h-EC₅₀;单因素方差分析(One-Way ANOVA)、双因素方差分析(Two-Way ANOVA)和 LSD 多重比较检验采用 SPSS20.0(IBM, USA),*P*< 0.05 为差异显著;Pearson 相关性分析采用 SPSS20.0 (IBM, USA),*P*<0.05 为显著相关。

2 结果(Results)

2.1 半数致死浓度和半数效应浓度

甲维盐对日本虎斑猛水蚤雄性和雌性的 96 h 半数致死浓度(96 h-LC₅₀)分别为 7 156 µg・L⁻¹ 和 3 637 µg・L⁻¹(图 1)。其中,雄性在 6 400 µg・L⁻¹ 全部死亡;而雌性在 6 000 µg・L⁻¹死亡率仅为 10%, 在 20 000 µg・L⁻¹全部死亡。EMB 对雌性个体的 24 h 半数效应浓度(24 h-EC₅₀)为 3.5 µg・L⁻¹(图 2)。

2.2 对摄食的影响

随着甲维盐浓度升高,日本虎斑猛水蚤摄食率 和滤水率均呈现降低的趋势(图 3)。0.5 μ g·L⁻¹浓度 组的摄食率和滤水率与对照组相比无显著差异(*P*> 0.05)。当甲维盐浓度>1 μ g·L⁻¹,实验组与对照组 差异显著(*P*<0.01),均值明显降低。在 5 μ g·L⁻¹组 摄食率和滤水率达到最低,均值低至 2 412 cells· (ind · h)⁻¹ 和 0.011 mL · (ind · h)⁻¹, 仅为对照组的 29% 和 28%。



注:雌性拟合曲线公式为 y=99.9-<u>99.93</u> 1+e^{x-7.156}/_{0.642}, r²=0.999, P<0.01;

雄性拟合曲线公式为
$$y=100.8 - \frac{103.88}{1+e^{0.780}}, r^2 = 0.937, P < 0.01$$
。

Fig. 1 Susceptibility of female and male *T. japonicus* to emamectin benzoate (EMB) for 96 h exposure

Note: Mortality data were fitted to a dose response curve (variable slope);.

The equation for female is
$$y=99.9 - \frac{99.93}{1 + e^{\frac{x-7.156}{0.642}}}$$
, $r^2 = 0.999$, $P < 0.01$;
the equation for male is $y=100.8 - \frac{103.88}{1 + e^{\frac{x-3.637}{0.780}}}$, $r^2 = 0.937$, $P < 0.01$.



图 2 甲维盐对雌性日本虎斑猛水蚤 24 h 的效应剂量响应曲线

注: 拟合曲线公式为
$$y=100-\frac{100}{1+e^{\frac{x-35}{0.25}}}$$
, $r^2=0.807$, $P<0.01$ 。

Fig. 2 Susceptibility of female *T. japonicus* to EMB for 24 h exposure

Note: Effective concentration data were fitted to a dose response curve (variable slope); the equation is $y=100-\frac{100}{1+e\frac{x-3.5}{0.25}}$, $t^2=0.807$, P<0.01.



图 3 甲维盐对日本虎斑猛水蚤摄食率和滤水率的影响

注:a、b、c表示不同暴露浓度下的组间差异性,P<0.05;*P<0.05、

** P<0.01 表示各实验组与对照组的差异性; control 代表 对照组, solvent 代表溶剂对照组; 下同。

- Fig. 3 The effect of EMB on the grazing rate and filtering rate of *T. japonicus*
- Note: Different letters indicate a significant difference among EMB treatments at *P*<0.05; * *P*<0.05, * * *P*<0.01 denote significant difference from the control; the same below.

2.3 对生化指标的影响

暴露在不同浓度的甲维盐下,日本虎斑猛水蚤 体内的抗氧化酶 SOD 和 GPx 活性均出现显著的变 化(P<0.05)(图 4)。在一定浓度范围内,SOD 和 GPx 活性随甲维盐浓度升高而升高,在超过一定浓度后, 趋于平稳。其中,SOD 活性在 1.0~3.5 μg·L⁻¹出现 增长趋势,在 3.5 μg·L⁻¹最高,达到 48.7 U·mg⁻¹ prot;GPx 活性在 0.5~1.0 μg·L⁻¹上升明显,在 1 μg ·L⁻¹最高,达到 118.8 U·mg⁻¹ prot。两者分别在 3.5 ~5.0 μg·L⁻¹和 1.0~5.0 μg·L⁻¹趋于平缓。二者变 化趋势显著正相关(r=0.746、P<0.05)。实验浓度范 围内,CAT 活性较对照组无显著变化(P>0.05)。

AChE 与 SOD、GPx 具有相似的变化趋势,酶活 性随着甲维盐浓度的升高而上升。在甲维盐浓度达 到 3.5 μ g·L⁻¹时,实验组 AChE 活性与对照组相比 显著升高,达到 2.4 U·mg⁻¹ prot,为对照组的 1.4 倍。 且 AChE 与 SOD、GPx 活性的变化趋势呈显著正相 关(AChE 与 SOD, *r*=0.733、*P*<0.05; AChE 与 GPx, *r* =0.541、*P*<0.05)。

2.4 对生殖发育的影响

F1 和 F2 日本虎斑猛水蚤无节幼虫变态至桡足 幼体 CI 期所需时间均为 5~8 d,桡足幼体发育为成 体的时间为 6~10 d(图 5)。在无节幼虫发育时间 上,F1 中 0.05 μg·L⁻¹和 0.25 μg·L⁻¹浓度组与对照 组差异显著(*P*<0.05),F2 未见实验组与对照组相比



图 4 甲维盐对日本虎斑猛水蚤生化指标的影响

Fig. 4 The effect of EMB on the activities of the antioxidant enzymes of *T. japonicus* Note: SOD is superoxide dismutase; GPx is glutathione peroxidase; CAT is catalase; AchE is acetylcholinesterase.



图 5 甲维盐对日本虎斑猛水蚤发育时间的影响

注:F1、F2 为暴露世代,F3 为恢复世代。

Fig. 5 Effect of EMB on the developmental time of *T. japonicus* Note: F1 and F2 were exposed to EMB, and F3 was recovered in sea water. 有显著性差异(P>0.05);在桡足幼体发育时间上,F1 中 0.5 μg·L⁻¹浓度组相比对照组显著下降(P<0.05), F2 中 0.025 μg·L⁻¹浓度组与对照组相比显著降低(P <0.05)。但日本虎斑猛水蚤的发育时间并未呈现随 甲维盐浓度变化而规律性变化的趋势。无节幼虫的 发育率随甲维盐浓度变化不大,但桡足幼体发育率







图 7 甲维盐对雌性日本虎斑猛水蚤 10 d 孵化量的影响 Fig. 7 Effect of EMB on the 10 day fecundity of female *T. japonicus*

明显低于无节幼虫,且有随甲维盐浓度升高而降低的趋势(图 6)。未发育成功的个体表现出发育停滞的现象。在总发育率上,当甲维盐浓度 \geq 0.05 μ g·L⁻¹时,日本虎斑猛水蚤发育率不断降低;当浓度达到 0.5 μ g·L⁻¹时,发育率相较对照组显著降低(*P*<0.05);浓度达到 2.5 μ g·L⁻¹,幼体全部死亡。F3 为恢复世代,在发育时间上,无节幼虫变态至桡足幼体CI期仅有 0.25 μ g·L⁻¹浓度组较对照组显著升高(*P*<0.05);桡足幼体到成体时期各实验组较对照组未显著变化(*P*>0.05)。F3 发育率的变化趋势与 F1、F2 相同。

3个世代雌性个体的 10 d 产卵次数均为 3 次, 对照组和溶剂对照组产卵量的平均值在 69~77 个 (图 7)。当甲维盐浓度达到 0.5 μ g·L⁻¹时,产卵量平 均值在 58~64 个。F1、F2 和恢复世代 F3 均可见甲 维盐浓度达到 0.5 μ g·L⁻¹时,总产卵量与对照组相 比有显著性差异(*P*<0.05),明显降低。

对 F1、F2 和 F3 进行双因素方差分析(表 1)可 得:在无节幼虫、桡足幼体的发育时间和桡足幼体的 发育率上,甲维盐浓度和世代存在交互关系。无节 幼虫、桡足幼体的发育时间上,3 代之间均有显著性 差异(P<0.01);而桡足幼体的发育率上,F2、F3 与 F1 有显著性差异(P<0.05),F2 与 F3 之间没有显著性差 异(P>0.05)。在无节幼虫的发育率、总发育率和10 d 产卵量上,甲维盐浓度和世代不存在交互关系。其 中,无节幼虫的发育率和总发育率对于世代的主效 应差异不显著(P>0.05);10 d 产卵量对于世代的主 效应差异显著(P<0.05),且 F2、F3 与 F1 有显著差异 (P<0.01),F2 与 F3 之间没有显著性差异(P>0.05)。

		甲维盐浓度		世代			甲维盐浓度×世代		
	EMB treatment			Generation			EMB treatment×generation		
	F	df	Р	F	df	Р	F	df	Р
t1	8.287	5	< 0.001	101.981	2	< 0.001	3.408	10	0.003
t2	2.017	5	0.100	43.636	2	< 0.001	4.155	10	0.001
rl	1.939	5	0.112	1.735	2	0.191	1.475	10	0.189
r2	10.038	5	<0.001	6.169	2	0.005	4.196	10	0.001
r3	13.185	5	< 0.001	2.544	2	0.093	2.037	10	0.058
f	9.046	5	< 0.001	7.326	2	0.001	0.713	10	0.710

表 1 日本虎斑猛水蚤的生殖发育受甲维盐浓度和世代影响的显著性检验 Table 1 Significance test displaying the effects of EMB treatment and generation

on reproductive development of T. japonicus

注:11、12表示桡足类无节幼虫、桡足幼体的发育时间、r1、r2和r3表示桡足类无节幼虫、桡足幼体和整个发育过程的发育率、f表示10d产卵量。

Note: t1, t2 represent the development time of nauplii stage and copepodite stage; r1, r2 and r3 represent the development rate from nauplii to copepodite, from copepodite to adult, and of the complete development process respectively; f represents the 10 day fecundity.

综合各个指标,F3并未表现出恢复迹象。

3 讨论(Discussion)

3.1 急性毒性影响

猛水蚤相比浮游桡足类通常具有较强的抵御环 境变化的能力。例如,猛水蚤对硫化锌和束毛藻 (*Trichodesmium* spp.)毒素的耐受能力显著高于浮游 桡足类^[18-19]。本研究中甲维盐对日本虎斑猛水蚤雌 性个体的 96 h-LC₅₀ 为 7 156 μ g·L⁻¹,雄性为 3 637 μ g·L⁻¹。衣晓燕^[15]的研究表明,甲维盐对浮游桡足 类火腿伪镖水蚤的 96 h-LC₅₀ 为 22.9 μ g·L⁻¹,远远 低于日本虎斑猛水蚤。猛水蚤对甲维盐的耐受能力 显著高于浮游种类。甲维盐对寄生性桡足类 *Lepeophtheirus mugiloidis* 和雌性智利鱼虱的 24 h-EC₅₀ 比日本虎斑猛水蚤的 3.5 μ g·L⁻¹高 1 ~ 2 个数 量级,分别为 34.2 μ g·L⁻¹和 169.0 μ g·L^{-1[720]}。猛水 蚤对甲维盐的敏感度比寄生性桡足类高。

甲壳动物对污染物的敏感度通常存在性别差 异。如在鱼藤酮(rotenone)、多氯联苯(polychlorinated biphenyl Aroclor 1254)和多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons)暴露条件下,雄性猛水蚤比雌性 敏感^[21-23]。本研究也显示,雌性与雄性对甲维盐的 耐受性存在差别,并与上述研究中猛水蚤不同性别 对于外源污染物的敏感度类似。另外,也有研究表 明,甲维盐暴露下,鲑疮痂鱼虱雌性比雄性更加敏 感^[24-25],不同物种雌雄个体对于甲维盐的敏感性可 能存在差异。

3.2 甲维盐对桡足类摄食的影响

在本研究中,随着甲维盐浓度的增加,日本虎斑 猛水蚤的摄食率和滤水率降低。暴露于 3.5 μg·L⁻¹ 甲维盐 24 h 后,日本虎斑猛水蚤出现部分个体趴 底,运动能力明显下降的现象,而 5 μg·L⁻¹时,所有 个体均趴底,无自主活动能力,这会严重影响到其摄 食和滤水的效率。Willis 和 Ling^[14]的研究表明,甲 维盐暴露条件下,4 种浮游桡足类也出现运动能力 显著下降,无法摄食。甲维盐可能通过麻痹神经的 作用^[1-3],使桡足类无法摄食,抑制能量的摄入,影响 正常的生命活动,对机体造成危害。

3.3 甲维盐对生化指标的影响

SOD、CAT 和 GPx 是抗氧化防御系统中重要的 抗氧化酶,对清除机体内活性氧,保护机体免受氧化 损伤发挥着重要作用^[26-27]。一般认为,受轻度毒物 影响,SOD活性升高;而重度胁迫条件下,SOD活性 下降,出现氧化损伤^[28-29]。日本虎斑猛水蚤在 Hg 的胁迫下,SOD 和 GPx 活性会随 Hg 浓度的升高先 上升后下降^[30];在三氯生(triclosan)的作用下,SOD 活性随浓度的升高而升高^[31]。本研究中,随着甲维 盐浓度的升高,日本虎斑猛水蚤的 SOD 和 GPx 活 性上升,并未出现下降。甲维盐激发了日本虎斑猛 水蚤体内抗氧化防御系统 SOD 和 GPx 活 应,出现"毒物兴奋效应"^[28],但甲维盐的最高浓度 的胁迫也可能未超过日本虎斑猛水蚤防御机制的能 力。不同的是,暴露在所有浓度的甲维盐中,日本虎 斑猛水蚤 CAT 活性均未出现显著变化,可能的原因 是本研究设置的浓度和测定时间没有达到 CAT 的 诱导阈值,或者超过 CAT 的反应时间。日本虎斑猛 水蚤暴露于最高浓度 5 μg·L⁻¹ 24 h 后,虽然行动能 力下降,但抗氧化还原体系仅部分抗氧化酶被激发 解毒,并未超过自身的防御能力。

AChE存在于绝大多数水生生物中,是连接感受器与神经肌肉的重要神经传递物质,通过催化乙酰胆碱,使其水解为乙酸和胆碱,维持神经冲动的正常进行^[32-34]。AChE活性无论受到抑制还是诱导都会给生物体带来危害。有研究认为甲维盐会影响AChE的活性。在甲维盐的作用下,小鼠(*Rattus nor-vegicus*)的AChE被显著抑制,活性降低^[35]。在本研究中,暴露于甲维盐24h对AChE活性的影响显著趋于诱导,可能导致桡足类神经冲动传递出现障碍,造成桡足类反应能力下降,行动迟缓,甚至麻痹死亡。

3.4 甲维盐对桡足类生殖发育的影响

日本虎斑猛水蚤的发育时间随甲维盐浓度变化 无明显的变化规律,但发育率随甲维盐浓度的升高 而降低,在0.5 μg·L⁻¹甲维盐浓度下,F1、F2 到成体 的发育率都低于 80%,F1 仅为 49%。衣晓燕^[15]的 研究也表明,随着甲维盐浓度的升高,火腿伪镖水蚤 幼体的存活率和发育率呈下降趋势。甲维盐对日本 虎斑猛水蚤产卵次数的影响并不明显;但在 10 d 产 卵量上,暴露于 0.5 μg·L⁻¹的实验组与对照组相比 在 F1、F2 均出现显著降低(*P*<0.05)。有研究表明, 甲维盐对智利鱼虱的孵化率也有显著影响^[56]。甲维 盐可能使雌性桡足类为抵御不良状态而降低产卵 量,从而抑制桡足类的繁殖能力,并影响桡足类幼体 的生长发育,导致种群数量减少,进而影响群落结构 和海洋生态系统功能。

甲维盐对桡足类的生存和繁殖力的毒害影响都 是不可恢复的^[14]。本研究表明,经两代甲维盐暴露 后,在海水恢复处理下日本虎斑猛水蚤 F3 的发育 率和孵化能力与 F1、F2 相比,并未出现恢复迹象。 甲维盐对于桡足类的影响可由亲代传递给子代,可 能不可恢复。在发育率和产卵量上,F2、F3 与 F1 之 间有显著性差异,而 F2 与 F3 差异不大,分析原因 可能是慢性毒性世代 F2 相较 F1 出现一定的抗性, F3 延续了这种抗性,尚未恢复正常的繁殖状态。

综上所述,日本虎斑猛水蚤对甲维盐的敏感度 比寄生性桡足类高,耐受能力比浮游桡足类高;雄性 的耐受能力比雌性低;暴露条件下,日本虎斑猛水蚤 的运动能力、摄食率和滤水率受到严重影响,而 SOD 和 GPx 活性被激发, AChE 被显著诱导, CAT 活性无显著变化;并且甲维盐会降低日本虎斑猛水 蚤的发育率和产卵能力。甲维盐可能会减小桡足类的种群规模,影响群落结构和食物网功能。如何合 理使用甲维盐等农药,既满足农业生产和水产养殖的需要,又尽可能减少对海洋生态环境的影响有待 进一步探讨。

通讯作者简介:刘光兴(1964—),男,教授,博士生导师,兼任 中国环境科学学会海洋环境保护专业委员会副主任委员,海 洋生物普查(CoML)中国委员会委员等,研究方向为生物海 洋学领域有关浮游生物多样性和分子生态学。

参考文献(References):

- [1] Arena J P. Expression of *Caenorhabditis elegans* mRNA in n *Xenopus* oocytes: A model system to study the mechanism of action of avermeetins [J]. Parasitology Today, 1994, 10(1): 35-37
- [2] Arena J P, Liu K K, Paress P S, et al. The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditis elegans*: Correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane binding, and biological activity [J]. Journal of Parasitology, 1995, 81(2): 286-294
- [3] Vassilatis D K, Elliston K O, Paress P S, et al. Evolutionary relationship of the ligand-gated ion channels and the avermectin-sensitive, glutamate-gated chloride channels
 [J]. Journal of Molecular Evolution, 1997, 44(5): 501-508
- [4] Rahman M M, Baker G, Powis K J, et al. Induction and transmission of tolerance to the synthetic pesticide emamectin benzoate in field and laboratory populations of diamondback moth [J]. Journal of Economic Entomology, 2010, 103(4): 1347-1354
- [5] Mccullough D G, Poland T M, Anulewicz A C, et al. E-valuation of *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) control provided by emamectin benzoate and two neonic-otinoid insecticides, one and two seasons after treatment [J]. Journal of Economic Entomology, 2011, 104 (5): 1599-1612
- [6] Ramstad A, Colquhoun D J, Nordmo R, et al. Field trials in Norway with SLICE[®](0.2% emamectin benzoate) for the oral treatment of sea lice infestation in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* [J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2002, 50(1): 29-33
- [7] Bravo S, Sevatdal S, Horsberg T E. Sensitivity assessment of *Caligus rogercresseyi* to emamectin benzoate in Chile
 [J]. Aquaculture, 2008, 282(1): 7-12

- [8] Scottish Environment Protection Agency. Review of Envi
 - ronmental Quality Standard for Emamectin Benzoate [R]. Scottish Environment Protection Agency, 2017
- [9] Telfer T C, Baird D J, Mchenery J G, et al. Environmental effects of the anti-sea lice (Copepoda: Caligidae) therapeutant emamectin benzoate under commercial use conditions in the marine environment [J]. Aquaculture, 2006, 260(1): 163-180
- [10] European Food Safety Authority. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance emamectin [J]. EFSA Journal, 2012, 10(11): 2955
- Benskin J P, Ikonomou M G, Surridge B D, et al. Biodegradation potential of aquaculture chemotherapeutants in marine sediments [J]. Aquaculture Research, 2016, 47(2): 482-497
- [12] Huys R, Boxshall G A. Copepod Evolution [R]. London: The Ray Society, 1991
- [13] 李少菁, 许振祖, 黄加祺, 等. 海洋浮游动物学研究[J].厦门大学学报: 自然科学版, 2001, 40(2): 574-585
- [14] Willis K J, Ling N. The toxicity of emamectin benzoate, an aquaculture pesticide, to planktonic marine copepods[J]. Aquaculture, 2003, 221(1): 289-297
- [15] 衣晓燕. EMB 对桡足类火腿伪镖水蚤个体和转录组水 平上的毒性效应研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2016: 27-33

Yi X Y. Toxicity study of emamectin benzoate on marine copepod *Pseudodiaptomus poplesia* at individual and transcriptomic levels [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2016: 27-33 (in Chinese)

- [16] Frost B W. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behavior of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus* [J]. Limnology & Oceanography, 1972, 17(6): 805-815
- [17] Li H, Lin S, Wang D, et al. Impacts of mercury exposure on life history traits of *Tigriopus japonicus*: Multigeneration effects and recovery from pollution [J]. Aquatic Toxicology, 2015, 166: 42-49
- [18] Hack L, Tremblay L, Wratten S, et al. Zinc sulfate and atrazine toxicity to the marine harpacticoid copepod *Robertsonia propinqua* [J]. New Zealand Journal of Marine & Freshwater Research, 2008, 42(1): 93-98
- [19] Hawser S P, O' Neil J M, Roman M R, et al. Toxicity of blooms of the cyanobacterium *Trichodesmium* to zooplankton [J]. Journal of Applied Phycology, 1992, 4(1): 79-86
- [20] Bravo S, Sevatdal S, Horsberg T E. Sensitivity assessment

in the progeny of *Caligus rogercresseyi* to emamectin benzoate [J]. Bulletin-European Association of Fish Pa-thologists, 2010, 30(3): 99-105

- [21] Næss T. Ontogenetic and sex dependent rotenone tolerance of a marine copepod, *Acartia clausi* Giesbrecht [J]. Sarsia, 1991, 76(1-2): 29-32
- [22] Dipinto L M, Coull B C, Chandler G T. Lethal and sublethal effects of the sediment-associated PCB Aroclor 1254 on a meiobenthic copepod [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1993, 12(10): 1909-1918
- [23] Carman K R, Todaro M A. Influence of polycyclic aromatic hydrocarbons on the meiobenthic-copepod community of a Louisiana salt marsh [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1996, 198(1): 37-54
- [24] Westcott J D, Stryhn H, Burka J F, et al. Optimization and field use of a bioassay to monitor sea lice *Lepeophtheirus* salmonis sensitivity to emamectin benzoate [J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2008, 79(2): 119-131
- [25] Igboeli O O, Fast M D, Heumann J, et al. Role of P-glycoprotein in emamectin benzoate (SLICE[®]) resistance in sea lice, *Lepeophtheirus salmonis* [J]. Aquaculture, 2012, 344-349: 40-47
- [26] Michiels C, Remacle J. Use of the inhibition of enzymatic antioxidant systems in order to evaluate their physiological importance [J]. European Journal of Biochemistry, 1988, 177(2): 435-441
- [27] Laper R, Crago J, Barr J, et al. Toxicity biomarker expression in daphnids exposed to manufactured nanoparticles: Changes in toxicity with functionalization [J]. Environmental Pollution, 2009, 157: 1152-1156
- [28] Stebbing A R. Hormesis—The stimulation of growth by low levels of inhibitors [J]. Science of the Total Environment, 1982, 22(3): 213-234
- [29] 唐学玺,张培玉. 蔥对黑鱼君超氧化物歧化酶活性的 影响[J]. 水产学报, 2000, 24(3): 217-220
 Tang X X, Zhang P Y. Effects of anthracene on activity of superoxide dismutase in *Sebastodes fuscescens* [J]. Journal of Fisheries of China, 2000, 24(3): 217-220 (in Chinese)
- [30] Wang M, Wang G. Oxidative damage effects in the copepod *Tigriopus japonicus* Mori experimentally exposed to nickel [J]. Ecotoxicology, 2010, 19(2): 273-284
- [31] Park J C, Han J, Lee M C, et al. Effects of triclosan (TCS) on fecundity, the antioxidant system, and oxidative stress-mediated gene expression in the copepod *Tigriopus japonicus* [J]. Aquatic Toxicology, 2017, 189: 16-24

- [32] Bonting S L, Featherstone R M. Ultramicro assay of the cholinesterases [J]. Archives of Biochemistry & Biophysics, 1956, 61(1): 89-98
- [33] Jokanović M, Maksimović M. Abnormal cholinesterase activity: Understanding and interpretation [J]. European Journal of Clinical Chemistry & Clinical Biochemistry Journal of the Forum of European Clinical Chemistry Societies, 1997, 35(1): 11
- [34] Soreq H, Seidman S. Acetylcholinesterase—New roles for an old actor [J]. Nature Reviews Neuroscience, 2001, 2

(4): 294-302

- [35] Khaldoun-Oularbi H, Allorge D, Richeval C, et al. Emamectin benzoate (Proclaim[®]) mediates biochemical changes and histopathological damage in the kidney of male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) [J]. Toxicologie Analytique et Clinique, 2015, 27(2): 72-80
- [36] Bravo S, Silva M T, Agusti C, et al. The effect of chemotherapeutic drugs used to control sea lice on the hatching viability of egg strings from *Caligus rogercresseyi* [J]. Aquaculture, 2015, 443: 77-83 ◆