

铜与乙草胺对浮萍的联合毒性效应

戴灵鹏, 张磊, 陈露露, 吴敏磊, 陈可利

(温州大学生命与环境科学学院, 浙江 温州 325027)

摘要 采用以体数、鲜重和叶绿素为测试指标的浮萍生长抑制试验 (ISO20079), 评价了 Cu 和乙草胺单一和复合污染的毒性效应。结果表明, Cu 和乙草胺单一污染对浮萍上述指标均具有显著的抑制作用, 且 Cu 的毒性大于乙草胺。Cu 和乙草胺对浮萍的联合毒性作用与浓度组合及暴露时间密切相关: 当采用浓度 1:1 进行试验时, 暴露时间为 24 h 的相加指数 (AI) 为 0.057, 联合毒性为相加作用; 暴露时间为 48、96、168 h 的 AI 分别为 0.193、0.509、0.783, 为协同作用。而当采用毒性 1:1 进行试验时, 暴露时间为 24 h 的 AI 为 -0.163, 为拮抗作用; 48 h 的 AI 为 0.029, 为相加作用; 96、168 h 的 AI 分别为 0.471、0.585, 为协同作用。总的来说, 随着暴露时间的延长, 联合毒性表现为协同作用。

关键词 铜 乙草胺 联合毒性 浮萍

中图分类号 X503.233 **文献标志码** A **文章编号** 1672-2043(2009)04-0772-05

Joint Toxic Effects of Copper and Acetochlor on *Lemna minor* L.

DAI Ling-peng, ZHANG Lei, CHEN Lu-lu, WU Min-lei, CHEN Ke-li

(School of Life and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou 325027, China)

Abstract The single and joint toxic effects of copper and acetochlor were tested with *L. minor* by measuring frond number, fresh weight and chlorophyll content, according to the ISO20079 test protocol. The results showed that copper and acetochlor single pollution significantly inhibited the above mentioned parameters of *L. minor*. Chlorophyll was the most sensitive to the toxicity of copper followed by fresh weight frond number, while fresh weight was the most sensitive to the toxicity of acetochlor followed by frond number and chlorophyll. On the basis of the IC_{50} values, the toxicity of copper was much higher than that of acetochlor. The joint toxic effects of copper and acetochlor were in relation to their different concentration combinations and expose time. While the concentration was 1:1, the addition index (AI) of expose time 24 h was 0.057, the joint toxicity was additivity. AI of expose time of 48, 96 and 168 h were 0.193, 0.509 and 0.783, respectively, indicating a synergism between copper and acetochlor. While the toxicity was 1:1, AI of expose time 24 h was -0.163 and an antagonism was shown between the combinations. AI of expose time of 48 h was 0.029, the joint toxicity was additivity. AI of expose time of 96 and 168 h were 0.471 and 0.585, respectively, the joint toxicity were synergism. In conclusion, the results suggest that the joint toxicity tended to be synergism with expose time prolonging.

Keywords copper; acetochlor; joint toxicity; *L. minor*

以硫酸铜为主要成分的无机杀菌剂、杀虫剂在去除水体藻类、真菌和软体动物时的不合理施用使水体 Cu 污染日益严重^[1-2]。Cu 是植物生长和生理代谢的必需元素, 但当环境中 Cu 含量超过临界值时, 就会对植物, 尤其是水生植物, 产生毒害作用, 使植物体内的代谢过程发生紊乱, 生长发育受到抑制, 甚至导致植物死亡^[3-4]。乙草胺是一种氯代乙酰胺类除草剂, 自 1982 年

发明以来, 一直在世界范围内广泛应用于农田除草, 在我国的年使用量高达 104 t^[5-6]。乙草胺随地表径流、淋溶和渗透等进入水体, 造成水体污染。乙草胺及其代谢产物对非靶标生物的影响引起人们越来越多的关注^[6-8]。

浮萍科植物是广泛分布的大型水生漂浮植物, 由于具有个体小、生长快速和结构简单等特点而成为有毒化学品生物毒性评价的常用植物^[9-10]。但由于不同的试验采用不同的物种、营养液、光照和温度, 使实验结果存在很大的差异, 导致测试结果难以比较。目前, 以浮萍 (*Lemna minor* L.) 植物体数、鲜重和叶绿素为反应终点的 7 d 生长抑制试验对有毒化学品进行毒

收稿日期 2008-10-21

基金项目 国家自然科学基金项目 (30800159)

作者简介 戴灵鹏 (1975—), 男, 博士, 讲师, 主要从事环境生物技术与生态毒理学研究。E-mail 1pdai@wzu.edu.cn

性评价已建立了标准化的测试方法^[11-12]。

在实际水体中通常存在着多种污染物,且复合污染的毒性效应较单一污染更为复杂,故研究多种污染物的联合毒性效应比单一污染物的毒性效应更能客观地反映污染物对环境生物的毒性作用^[13]。近年来,有关 Cu 和乙草胺污染对微生物^[14]、蚯蚓^[15]和斑马鱼^[16]的联合毒性效应已有研究报道,而对水生植物的研究则未见报道。本试验采用以个体数、鲜重和叶绿素为测试指标的浮萍生长抑制试验 (ISO20079),研究了 Cu 和乙草胺复合污染的毒性效应,以期在水体复合污染的风险评价提供更为科学的依据,并为复合污染物排放标准的制定提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试材料及预培养

浮萍 (*L. minor* L.) 采自温州市郊的湖泊。将植物材料用 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 次氯酸钠浸泡约 30 s 以除菌和阻止藻类生长,再用蒸馏水漂洗数次,然后放入盛有 3 L 已高温消毒、改良的 Steinberg 培养液的玻璃缸中进行扩大培养,其组成如下 $3.46 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$, $1.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca} (\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $0.66 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$, $0.072 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_2\text{HPO}_4$, $0.41 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $1.94 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ H}_3\text{BO}_3$, $0.63 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $0.18 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $0.91 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $2.81 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $4.03 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ EDTA-Na}_2$, 调节 pH 值至 5.5。培养温度约 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 光照为室内自然光加荧光灯,光照强度为 $(100 \pm 15) \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光暗周期为 18 h:6 h。培养过程中每隔 7 d 更换培养液 1 次,以维持溶液中营养成分浓度的稳定。培养 14 d 后的浮萍用于试验处理。

1.1.2 供试化学品

乙草胺,为市售 50% 乳油,大连瑞泽农药有限公司生产。硫酸铜 (CuSO_4),分析纯,北京化学试剂一厂生产。

1.2 试验方法

1.2.1 Cu、乙草胺单一毒性试验

在预试验基础上,按等比级差设定单一毒性试验浓度。Cu 处理浓度 (以纯 Cu 计算) 为 0.01、0.04、0.14、0.53、 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和空白对照组;乙草胺处理浓度 (以纯乙草胺计算) 为 0.1、0.32、1、3.16、 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和空白对照组。在直径为 9 cm 的培养皿中分别加入 50 mL 含不同浓度 Cu 或乙草胺的培养液。乙草胺单一毒性试

验采用的培养液与预培养一致,而 Cu 单一毒性试验采用的培养液不含 EDTA-Na_2 ,因为 EDTA 能螯合 Cu 而减少 Cu 的毒性^[9,17]。再将 10 个形状和大小一致、每株含 3 个叶状体的浮萍放入上述各染毒液中,每处理设 3 个重复。试验条件与预培养条件一致。分别在 24、48、72 和 96 h 收获 1 组浮萍,先对植物体进行计数,然后用吸水纸吸去水分并称鲜重,最后进行叶绿素含量的测定。即用 5 mL、80% 丙酮研磨匀浆,然后在 $10\,000 \text{ g}$ 离心 15 min。取上清液于波长 663、645 nm 处测定其吸光值,按 Lichtenthaler 的方法^[18]计算叶绿素含量。试验结果取 3 个重复的平均数,用 SPSS12.0 统计软件的概率单位法计算各暴露时间的半数抑制浓度 (IC_{50}) 及其 95% 置信区间。

1.2.2 Cu、乙草胺联合毒性试验

在单一毒性试验的基础上,以浮萍鲜重为测试指标,单一化合物 168 h 的 IC_{50} 值为一个毒性单位,分别按照毒性 1:1 和浓度 1:1 的混合比例以等对数间距 (参照毒性较大的物质设计) 设置 5 个不同的试验浓度,采用的培养液不含 EDTA-Na_2 ,试验方法和指标测定同单一毒性试验。测得各暴露时间的 IC_{50} 值,并计算出混合物中各组分的浓度及 95% 的置信区间。

1.2.3 联合毒性评价方法

采用水生毒理联合效应 Marking 相加指数法^[19],进行联合毒性大小的评价。在求得联合毒性的 IC_{50} 值后,用式 (1) 求得生物毒性相加作用之和 (S):

$$S = \frac{A_m}{A_1} + \frac{B_m}{B_1} \quad (1)$$

式中 A_1 、 B_1 分别为 A、B 毒物的毒性 (IC_{50} 值); A_m 、 B_m 分别为复合污染联合毒性中各毒物的毒性 (IC_{50} 值)。

将 S 转换成相加指数 (AI)。当 $S \leq 1$ 时, $AI = (1/S) - 1.0$; 当 $S > 1$ 时, $AI = S \times (-1) + 1.0$ 。最后用 AI 评价毒物的联合效应, $AI > 0$ 为大于相加作用,即协同作用; $AI < 0$ 为小于相加作用,即拮抗作用; $AI = 0$ 为相加作用。

2 结果与分析

2.1 Cu 对浮萍不同测试指标的单一毒性

由表 1 可知,随着染毒时间的增加,植物体数、鲜重、叶绿素含量的半数抑制浓度 (IC_{50}) 显著下降。当染毒时间为 168 h 时,浮萍植物体数、鲜重、叶绿素含量的 IC_{50} 分别为 96 h- IC_{50} 的 29.6%、24.4%、27.5%。由表 1 还可以看出,Cu 对浮萍不同测试指标的影响有很大差异。比较而言,叶绿素含量对 Cu 最为敏感,其不同时间的 IC_{50} 均小于植物体数和鲜重的 IC_{50} 。

表 1 Cu 对浮萍不同测试指标的单一毒性
Table 1 Single toxicity of Cu on different testing parameters of *L. minor*

项目	暴露时间/h	概率单位 (y) - 浓度 (x) 对数回归方程	相关系数	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹	IC ₅₀ 95%置信限/mg·L ⁻¹
植物体数	24	y=1.015x-1.372	0.928*	69.851	57.536~98.374
	48	y=1.409x-1.379	0.971*	21.576	13.801~43.712
	96	y=2.150x-0.673	0.936*	3.512	2.415~6.108
	168	y=20.493x+0.168	0.986*	1.038	0.751~1.919
鲜重	24	y=1.139x-0.832	0.957*	14.782	8.353~39.293
	48	y=1.190x-0.695	0.988*	10.093	7.178~26.671
	96	y=2.276x-0.280	0.974*	2.201	1.751~3.869
	168	y=-2.319x-0.126	0.943*	0.537	0.391~0.981
叶绿素	24	y=1.945x-1.572	0.946*	11.620	8.503~35.879
	48	y=2.239x-1.411	0.984*	7.135	5.395~19.436
	96	y=5.250x-0.241	0.927*	1.384	1.085~3.391
	168	y=-1.069x+0.092	0.980*	0.381	0.241~0.743

注：* $P<0.05$,下同。

2.2 乙草胺对浮萍不同测试指标的单一毒性

如表 2 所示,乙草胺单一污染对浮萍的生长起明显的抑制作用。随着染毒时间的延长,乙草胺对浮萍植物体数、鲜重、叶绿素含量的毒害效应更加显著。当处理时间为 168 h 时,浮萍植物体数、鲜重、叶绿素含量的 IC_{50} 分别为 96 h- IC_{50} 的 28.1%、30.0%、30.4%。乙草胺对浮萍不同测试指标的毒性顺序为鲜重>植物体数>叶绿素含量。

2.3 Cu 和乙草胺对浮萍的联合毒性

由表 3 可以看出,Cu 和乙草胺对浮萍的联合毒

表 2 乙草胺对浮萍不同测试指标的单一毒性
Table 2 Single toxicity of acetochlor on different testing parameters of *L. minor*

项目	暴露时间/h	概率单位 (y) - 浓度 (x) 对数回归方程	相关系数	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹	IC ₅₀ 95%置信限/mg·L ⁻¹
植物体数	24	y=1.333x-2.191	0.925*	104.324	88.157~239.685
	48	y=1.517x-2.039	0.913*	47.228	39.318~84.016
	96	y=1.866x-1.306	0.983*	9.284	7.592~23.275
	168	y=1.726x-0.219	0.956*	2.609	1.653~5.051
鲜重	24	y=1.373x-1.334	0.968*	21.673	18.271~47.609
	48	y=1.368x-1.165	0.950*	16.472	14.197~29.015
	96	y=1.064x-0.351	0.958*	6.307	4.961~18.746
	168	y=2.342x-0.148	0.964*	1.891	1.314~3.002
叶绿素	24	y=1.205x-1.489	0.902*	44.796	32.758~85.458
	48	y=1.249x-1.376	0.916*	31.805	24.318~53.825
	96	y=1.311x-0.985	0.931*	13.629	9.375~24.812
	168	y=1.251x-0.273	0.941*	4.153	2.159~7.275

性作用随着污染物的暴露时间不同而存在不同的表现方式。当 Cu 和乙草胺采用浓度 1:1,24 h 的 AI 为 0.057。由于 AI=0 是一种理想的相加作用,而在实际试验中存在误差,即使是相加作用,也很难恰好得到 AI=0 的结果^[16]。本结果 AI 值十分接近 0,因此,可认为两种污染物的联合毒性为相加作用。暴露时间为 48、96、168 h 的 AI>0,联合毒性表现为协同作用。当 Cu 和乙草胺采用毒性 1:1,24 h 的 AI<0,联合毒性为拮抗作用,48 h 的 AI≈0,为相加作用,96、168 h 的 AI>0,为协同作用。

表 3 Cu 和乙草胺对浮萍的联合毒性
Table 3 Joint toxicity of Cu and acetochlor on *L. minor*

配比	暴露时间/h	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹		S	AI	结论
		Cu	乙草胺			
浓度 1:1	24	8.291	8.291	0.943	0.057	相加作用
	48	5.248	5.248	0.839	0.193	协同作用
	96	1.081	1.081	0.663	0.509	协同作用
	168	0.235	0.235	0.561	0.783	协同作用
毒性 1:1	24	5.193	18.286	1.195	-0.163	拮抗作用
	48	3.106	10.938	0.972	0.029	相加作用
	96	0.672	2.364	0.680	0.471	协同作用
	168	0.169	0.596	0.631	0.585	协同作用

3 讨论

生长是植物生命活动的必然结果,也是多种生理生化过程综合作用的结果。不利的环境因素使任何一个生理生化活动受到抑制时,通常在生长上会有所反映,所以植物的生长是植物生命活动受胁迫与否以及受到影响程度的最直接和最常用的指标,生长抑制越显著,植物受到的损害就越大。本试验结果表明,Cu 和乙草胺单一污染对浮萍植物体数、鲜重、叶绿素含量的 IC_{50} 随着染毒时间的增加而显著下降(表1,表2),说明 Cu 和乙草胺单一污染均对浮萍的生长产生了显著的抑制作用。此外,在不同的暴露时间,Cu 对浮萍不同测试指标的 IC_{50} 都小于乙草胺,说明 Cu 单一污染对浮萍的毒性大于乙草胺,这与张倩茹等^[14]以细菌活菌数量为指标和邓铁柱等^[16]以斑马鱼为受试生物得到的结果一致。

不同测试指标的敏感性随污染物的不同而异。与植物体数、鲜重相比,叶绿素对 Cu 的毒害效应最为敏感(表 1)。其原因可能是 Cu 可对叶绿素直接产生毒性作用,而植物体数和鲜重是植物生长发育的各种生命活动受影响后的综合表现^[12]。Prasad 等^[10]认为Cu

引起的浮萍叶绿素含量减少主要归因于 Cu 引起叶绿素的分解。也有研究认为, Cu 抑制叶绿素生物合成所必需的原叶绿素酸酯还原酶的活性和影响 δ -氨基- γ -戊酮酸的合成而导致叶绿素含量下降^[20]。虽然乙草胺使植物叶片的叶绿素含量降低^[8], 但乙草胺对鲜重的抑制作用最显著(表 2), 这可能与乙草胺的作用机理有关。一般认为乙草胺通过影响植物的呼吸作用、蛋白质合成、激素水平而抑制植物的生长^[21]。

不论 Cu 和乙草胺采用浓度 1:1 或毒性 1:1, 随着暴露时间的延长, Cu 和乙草胺对浮萍的联合毒性都由最初的拮抗或相加作用转为协同作用(表 3), 即 Cu 的存在增加了乙草胺的毒性, 同时乙草胺的存在也增加了 Cu 的毒性。梁继东等^[15]研究乙草胺与 Cu 对赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)的复合毒性试验也发现, 复合毒性效应与各组浓度组合及污染暴露时间密切相关, 随时间的延长, 复合毒性效应由拮抗或相加作用变为协同作用。Frankart 等^[22]在进行 Cu 和除草剂丙炔氟草(flumioxazin)对浮萍的联合毒性试验结果表明, 混合毒物对浮萍的联合作用随浓度组合不同而不同。随着 Cu 含量的增加, Cu 和丙炔氟草对浮萍的联合毒性由相加作用转为协同作用。也有报道指出, 按浓度 1:1 配比的 Cd 和乙草胺对少根紫萍植物体数 96 h 的联合毒性为协同作用, 叶绿素 a 的浓度也呈现类似的规律^[23]。

到目前为止, 还没有一种公认的理论来解释污染物之间的协同效应。Cu 与乙草胺之间产生协同作用的机制可能是二者均会破坏浮萍细胞膜的结构与功能。Cu 胁迫能诱导植物体内活性氧的累积, 而活性氧进一步攻击脂质蛋白质, 从而对细胞造成过氧化损伤, 使细胞膜及多种细胞器的膜系统遭受破坏, 透性增强^[4, 24]。最近的研究表明, 乙草胺及其主要代谢物能诱导活性氧的产生, 导致脂质过氧化产物丙二醛的累积和膜透性的改变^[7]。因此, 一种污染物对细胞膜的作用, 使得另一种污染物更容易进入植物体内, 加剧了对植物细胞的伤害, 从而表现出协同作用。是否如此, 还需进一步研究。Cu 与乙草胺之间表现为拮抗作用, 可能是在最初的 24 h, Cu 与乙草胺的部分功能团发生配位作用, 导致 Cu 与乙草胺的生物可利用性下降, 从而毒性降低。Cu 和除草剂灭草烟、草甘磷之间发生配位作用已被许多生态毒理学试验所证实^[25-26]。

4 结论

(1) Cu 和乙草胺单一污染均对浮萍植物体数、鲜

重、叶绿素含量产生显著的抑制作用, 且 Cu 的毒性大于乙草胺。

(2) 随着暴露时间的延长, Cu 和乙草胺对浮萍的联合毒性都由最初的拮抗或相加作用变为协同作用, 其危害比 Cu 和乙草胺单一污染的毒性作用更大。

参考文献:

- [1] Haughey M A, Anderson M A, Whitney R D, et al. Forms and fate of Cu in a source drinking water reservoir following CuSO₄ treatment[J]. *Water Research*, 2000, 34: 3440-3452.
- [2] Perales-Vela HV, Gonzalez-Moreno S, Montes-Horcasitas C, et al. Growth, photosynthetic and respiratory responses to sub-lethal copper concentrations in *Scenedesmus incrassatulus* (Chlorophyceae) [J]. *Chemosphere*, 2007, 67 (11): 2274-2281.
- [3] Maksymiec W. Effect of copper on cellular processes in higher plants[J]. *Photosynthetica*, 1997, 34 (3): 321-342.
- [4] Drakiewicz M, Skorzynska-Polit E, Krupa Z. Copper-induced oxidative stress and antioxidant defence in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Biometals*, 2004, 17: 379-387.
- [5] Ye C. Environmental behavior of the herbicide acetochlor in soil[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, 71: 919-923.
- [6] Chao L, Zhou Q X, Chen S, et al. Single and joint stress of acetochlor and Pb on three agricultural crops in northeast China[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, 19: 719-724.
- [7] Liu Y, Zhang Y M, Liu J H, et al. The role of reactive oxygen species in the herbicide acetochlor-induced DNA damage on *Bufo raddei* tadpole liver[J]. *Aquatic Toxicology*, 2006, 78: 21-26.
- [8] 晁雷, 周启星, 陈苏, 等. 乙草胺对小麦生理机能的影响与生物标记物识别[J]. *环境科学*, 2007, 28 (4): 866-871.
CHAO Lei, ZHOU Qi-xing, CHEN Su, et al. Effects of herbicide acetochlor on physiological mechanisms in wheat and biomarkers identification[J]. *Environmental Science*, 2007, 28 (4): 866-871.
- [9] Wang W. Review literature review on duckweed toxicity testing[J]. *Environmental Research*, 1990, 52: 7-22.
- [10] Prasad M N V, Malec P, Waloszek A, et al. Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation[J]. *Plant Science*, 2001, 161: 881-889.
- [11] ISO/DIS 20079, Water quality - determination of the toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (*Lemna minor*) - Duckweed growth inhibition test[S]. ISO TC 147/SC 5/WG 5, 2004.
- [12] Naumann B, Eberius M, Appenroth K J. Growth rate based dose-response relationships and EC-values of ten heavy metals using the duckweed growth inhibition test (ISO 20079) with *Lemna minor* L. clone St[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164: 1656-1664.
- [13] Charles A L, Markich S J, Ralph P. Toxicity of uranium and copper individually, and in combination, to a tropical freshwater macrophyte (*Lemna aequinoctialis*) [J]. *Chemosphere*, 2006, 62: 1224-1233.
- [14] 张倩茹, 周启星, 张惠文. 乙草胺与硫酸铜对黑土微生物的复合生态影响[J]. *环境科学*, 2007, 28 (4): 826-831.

- ZHANG Qian-ru, ZHOU Qi-xing, ZHANG Hui-wen. Combined ecological effects of acetochlor and copper sulphate on microorganisms in phaeozem[J]. *Environmental Science*, 2007, 28 (4) : 826–831.
- [15] 梁继东, 周后星. 甲胺磷、乙草胺和铜单一与复合污染对黑土环境安全的胁迫研究[J]. *环境科学学报*, 2004, 24 (3) : 474–481.
- LIANG Ji-dong, ZHOU Qi-xing. Single and combined pollution of methamidophos, acetochlor and copper in phaeozem and its environmental safety significance[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2004, 24 (3) : 474–481.
- [16] 邓铁柱, 苏丽敏, 袁 星, 等. 乙草胺与 Cu, Zn 对发光菌和斑马鱼胚胎的联合毒性效应[J]. *环境化学*, 2007, 26 (6) : 741–744.
- DENG Tie-zhu, SU Li-min, YUAN Xing, et al. Joint toxicity of acetochlor and Cu, Zn to *photobacterium phosphoreum* and zebrafish (*B. rerio*) embryos[J]. *Environmental Chemistry*, 2007, 26 (6) : 741–744.
- [17] Razinger J, Dermastia M, Drinovec L, et al. Antioxidative responses of duckweed (*Lemna minor* L.) to short-term copper exposure[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2007, 14 (3) : 194–201.
- [18] Lichtenthaler H K. Chlorophylls and carotenoids—pigments of photosynthetic biomembranes[J]. *Methods in Enzymology*, 1987, 148 : 350–382.
- [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 Rui-qing, XU Yong-xiang, FU Ying-chun, et al. Additive index of coefficients for aquatic toxicology[J]. *Environmental Chemistry*, 1994, 13 (3) : 269–271.
- [20] Dewez David, Geoffroy Laure, Vernet Guy, et al. Determination of photosynthetic and enzymatic biomarkers sensitivity used to evaluate toxic effects of copper and fludioxonil in alga *Scenedesmus obliquus*[J]. *Aquatic Toxicology*, 2005, 74 (2) : 150–159.
- [21] 叶 蕙, 刘 伟, 陈建勋, 等. 乙草胺对水稻的伤害及 CGA₁₂₃₄₀₇ 对其伤害的保护作用[J]. *华南农业大学学报*, 2000, 21 (2) : 51–63.
- YE Hui, LIU Wei, CHEN Jian-xun, et al. Preliminary study on the effect of protectant CGA₁₂₃₄₀₇ in protecting rice seedlings from injury by acetochlor[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2000, 21 (2) : 51–63.
- [22] Frankart C, Eullaffroy P, Vernet G. Photosynthetic responses of *Lemna minor* exposed to xenobiotics, copper, and their combinations[J]. *Eco-toxicology and Environmental Safety*, 2002, 53 : 439–445.
- [23] 湛灵芝, 铁柏清, 秦普丰, 等. 铜和乙草胺对少根紫萍的毒性效应[J]. *安全与环境学报*, 2005, 5 (3) : 5–8.
- ZHAN Ling-zhi, TIE Bo-qing, QIN Pu-feng, et al. Toxic effect of cadmium and acetochlor on *Spirodela oligorrhiza*[J]. *Journal of Safety and Environment*, 2005, 5 (3) : 5–8.
- [24] Fernandes J C, Henriques F S. Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants[J]. *Botanical Review*, 1991, 57 : 246–273.
- [25] Duda A M, Dyba M, Kozłowski H, et al. Copper (II) complexes of the imidazole herbicide imazapyr[J]. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 1996, 44 (11) : 3698–3702.
- [26] Undabeytia T, Cheschire M W, McPhail D. Interaction of the herbicide glyphosate with copper in humic complexes[J]. *Chemosphere*, 1996, 32 (7) : 1245–1250.