

# 锐劲特和高效氯氰菊酯对原生动物群落的联合毒性

刘国光, 徐海娟, 王莉霞, 郑立庆

(河南师范大学化学与环境科学学院, 河南省环境污染控制重点实验室, 新乡 453002)

**摘要:** 与以单种生物为受试对象的毒性试验相比, 群落级生物毒性试验更接近自然环境, 更具有现实意义. 本文以淡水中原生动物群落为试验对象对锐劲特和高效氯氰菊酯的急性毒性和联合毒性进行研究. 实验结果表明, 锐劲特、高效氯氰菊酯对原生动物群落的 48h LC<sub>50</sub> 分别为 35.83 mg·L<sup>-1</sup>, 1.92 mg·L<sup>-1</sup>. 锐劲特-高效氯氰菊酯联合毒性测定是以等毒性比混配(配比为 18.6:1)进行的, 其 48h 联合毒性相加指数 AI 为 -0.08, 两者表现为弱的拮抗作用. 在低剂量锐劲特和高效氯氰菊酯的联合作用下, 原生动物群落功能类群发生变化, 食藻类和食肉类原生动物种类和数量将减少, 而食菌和碎屑类原生动物将成为相对优势种类.

**关键词:** 联合毒性; 微型生物群落; 锐劲特; 高效氯氰菊酯

中图分类号: X51 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2005)01-0185-05

## Joint Acute Toxicity of Fipronil and Beta-Cypermethrin to Protozoa Community

LIU Guo-guang, XU Hai-juan, WANG Li-xia, ZHENG Li-qing

(Henan Key Laboratory for Environmental Pollution control, College of Chemistry and Environmental Science, Henan Normal University, Xinxiang 453002, China)

**Abstract:** Compared with the toxicity test on single organism, the effects of toxic pollutants on organisms at community level are more reliable. The acute single and joint toxic effects of Fipronil and Beta-cypermethrin on freshwater protozoa community are studied in this paper. The results show that the 48h LC<sub>50</sub> of Fipronil and Beta-cypermethrin to the microbial community was 35.83 mg·L<sup>-1</sup>, 1.92 mg·L<sup>-1</sup>, the joint toxicity of Beta-cypermethrin and Fipronil was antagonism in 48h with toxicity 1:1 to freshwater protozoa community, and Additive Index was -0.08. The structure of protozoa community would change in a low concentration of Beta-cypermethrin and Fipronil mixture; the species and population of Algivores (A) and Predators Raptors (P) would reduce but Bacti-vores detritivores (B) would become predominant relatively.

**Key words:** joint toxicity; protozoa community; Fipronil; Beta-cypermethrin

聚氨酯泡沫塑料块 (Polyurethane Foam Unit, PFU) 法是一种用聚氨酯泡沫塑料块采集和研究水体微型生物的技术, 由 Cairns 于 1969 年首次提出<sup>[1]</sup>. PFU 采集到的主要为原生动物, 另外还有细菌、真菌、藻类以及小型的后生动物, 它们构成了有复杂食物网的微型生态系统. 实验证明原生动物群落对毒物胁迫的反映更具环境真实性<sup>[2,3]</sup>.

锐劲特 (Fipronil) 是法国罗纳普朗克农化公司于 1987 年开发研制的新型杀虫剂, 化学名称为 5-氨基-3-氰基-1-(2,6-二氯-4-三氟甲基苯基)-4-三氟甲基亚磺酰基吡唑, 已在水稻、蔬菜、果树等的害虫防治方面得到了广泛的应用. 但近年来国内外研究发现其对水生生物毒性较大, 特别对虾蟹<sup>[4-7]</sup>. 因此, 用群落级的毒性试验来进一步评价其毒性就显得尤为重要.

高效氯氰菊酯 (顺反式高效氯氰菊酯) 是氯氰菊酯的高效异构体, 其杀虫活性比氯氰菊酯高一倍左右, 自 80 年代初被广泛应用于农作物和卫生病虫害. 目前, 其对水生生物毒性作用方面的研究多集中

于藻<sup>[8]</sup>、蚤<sup>[9]</sup>、鱼类<sup>[10,11]</sup>, 而对水体中原生动物群落的毒性研究却鲜有报道.

近年来水环境中农药污染越来越严重并且种类繁多, 水生生物所胁迫为多种污染物的联合效应. Cairns<sup>[12]</sup>指出, 不能用单一种类毒性试验的结果作为评价整个生态系统的依据, 要求力争试验符合客观的、真实的环境. 目前报导的有关水体中复合污染物毒性试验方面的研究工作, 多以单种水生生物作为试验材料, 受试物种有藻类、蚤类、鱼类、软体动物和发光细菌等<sup>[13-16]</sup>, 而以自然水体中生物群落为受试对象的联合毒性研究却鲜有报道. 农药对非靶性生物的安全性是评价农药对环境影响的重要指标. 以基于群落结构、功能的改变评价化学品毒性的原生动物种类损伤法, 能够较为客观地反映在化学品环境中的生态效应, 有着单种受试生物不可比拟

收稿日期: 2004-02-18; 修订日期: 2004-05-08

基金项目: 河南省创新人才工程资助项目 (教育[2002]513)

作者简介: 刘国光 (1963~), 男, 河南汝阳人, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为环境化学. E-mail: guoguangliu@263.net

的优越性.本文采用 PFU 法收集的原生动物群落为受试对象,将群落级毒性试验和复合污染研究结合起来,在群落级水平上对农药高效氯氰菊酯和锐劲特的联合毒性进行生态毒理学研究.

## 1 材料和方法

### 1.1 试验仪器

试验中用 85-1 型磁力搅拌器(上海司乐仪器厂)充分混和 PFU 富集液,增加试验准确性.将配制好的试验溶液在 LRH-250-G II 微电脑控制光照培养箱(广东省医疗器械厂)模拟的自然环境下对原生动物群落进行培养.48h 后在 Olympus BX51 型光学显微镜(日本奥林巴斯光学工业株式会社)下鉴定原生动物种类.

### 1.2 试验试剂

高效氯氰菊酯(质量分数 4.5%乳油,上海正华农药有限公司)用重蒸水将高效氯氰菊酯稀释 1000 倍,配成  $45 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的母液;锐劲特(质量浓度 5%悬浮剂,罗纳普朗克农化公司)用重蒸水稀释 100 倍配成  $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的母液.

### 1.3 采集原生动物群落

将聚氨酯泡沫塑料(孔径为  $100 \sim 150 \mu\text{m}$ )切割为  $55 \text{ mm} \times 60 \text{ mm} \times 75 \text{ mm}$  的小块,采样前在去离子水中浸泡  $12 \text{ h} \sim 24 \text{ h}$ .采用悬挂式挂放法:用塑料绳将几块 PFU 绑成 1 束或 2 个 1 束分成几束,用石头沉于水中(防止 PFU 漂走).保持 PFU 在水面下  $30 \text{ cm}$  处,挂放数量因试验而定.取样时将挂于水中的 PFU 束取出,用食品塑料袋装好带回实验室后,带上橡胶手套将 PFU 中的富集液全部挤在预先洗净的烧杯中,食品塑料袋中的水也倒入烧杯中,放入光照培养箱中备用.由于试验证明用 PFU 采集原生动物群落过程中,原生动物的群集过程符合 MacArthur-Wilson 岛屿地理平衡模型<sup>[17]</sup>.所以根据 MacArthur-Wilson 模型,在预试验中由时间和原生动物种数绘制群集曲线,可以得出:该水体中原生动物群落第 14 天达到平衡,原生动物种类最为丰富,是进行毒性试验的最佳时期,所以本试验取 14d PFU 挤出液为受试对象.

### 1.4 试验条件

试验水体 pH 值为 8.23,将微生物在恒温( $25 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$  条件下,光暗比为 12h:12h,光强大于  $3000 \text{ lx}$  的模拟自然生境条件下培养.

### 1.5 试验步骤和方法

#### 1.5.1 单一毒物的急性毒性试验

根据预试验中所得的最小全致死和最大无死亡效应浓度范围,向装有 PFU 挤出液的培养瓶中分别加入适量的高效氯氰菊酯储备液配置成  $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $1.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $2.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $3.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $4.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的试验溶液,每个浓度梯度设 2 个平行样,放入光照培养箱中在模拟自然环境下培养 48h 后镜检,统计显微镜下看到的原生动物种数,采用系统软件 Origin6.0,将不同浓度下存活原生动物种数倒数和毒物浓度进行线性拟合,求出高效氯氰菊酯对微型生物群落的 48h  $\text{LC}_{50}$ .

锐劲特的急性毒性试验方法与高效氯氰菊酯的急性毒性试验方法相同,浓度梯度设为  $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  进行试验.

#### 1.5.2 联合毒性试验

根据单一毒物实验结果,将锐劲特和高效氯氰菊酯按等毒力(质量比为 18.6:1)混配,设置 5 个浓度梯度和一个对照组,每个浓度梯度设两个平行样,方法如单一毒性试验,置于光照培养箱中在模拟自然环境下培养 48h 后镜检.记录存活的原生动物种类数,通过原生动物种数和毒物浓度之间的关系求得锐劲特、高效氯氰菊酯混配溶液对原生动物群落的 48h 半数致死浓度  $\text{LC}_{50}$ ,采用 Marking 的相加指数法<sup>[18]</sup>(Addition Index) 来评价锐劲特和高效氯氰菊酯的联合毒性.

## 2 结果和讨论

### 2.1 锐劲特和高效氯氰菊酯的单一毒性效应

分别以浓度  $x(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$  对试验体系 48h 时原生动物的存活种数的倒数  $y(\text{种}^{-1})$  作图,得到锐劲特和高效氯氰菊酯对原生动物群落的单一毒性效应曲线如图 1,图 2 所示.毒物浓度与原生动物种数的倒数之间基本上为一线性关系.采用最小二乘法对

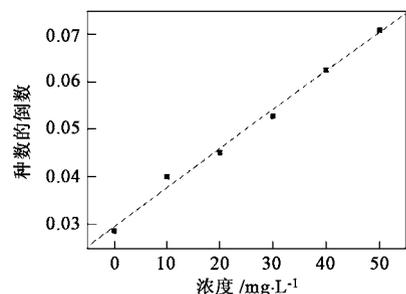


图 1 锐劲特对原生动物群落的毒性效应

Fig.1 Toxicity effects of Fipronil on PFU protozoa community(48h)

图 1,图 2 的直线进行拟合,分别得到 2 个线性方程,所得 48h- $LC_{50}$ 如表 1 所示.

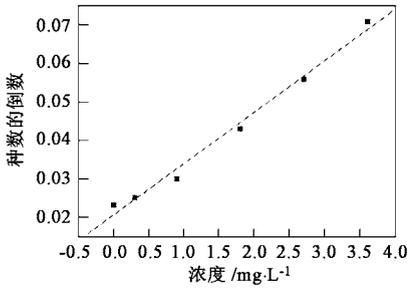


图 2 高效氯氰菊酯对原生动物的毒性效应  
Fig.2 Toxicity effects of Batα-cypermethrin on PFU protozoan community(48h)

由试验可以观察到存活原生动物种数和毒物浓度成负相关关系,随着毒物浓度的增大,原生动物种类减少,群落结构发生变化.不同种类对毒物的耐受力不同,如智利管叶虫(*Trachelophyllum pusillum*),凹扁拟斜管虫(*Chilodontopsis depressa*),旋毛草履虫(*Paramecium trichium*)等为比较敏感的种

类,在 0.3 mg/L 的高效氯氰菊酯溶液中已消亡;而一些小的鞭毛虫耐受性很强,在 4.5 mg·L<sup>-1</sup> 的高效氯氰菊酯溶液中,延长滴虫(*Monas elongate*)、气球屋滴虫(*Oikomonas termo*)、旋转锥滴虫(*Treptomonas steinii*)等种类仍然存活.在锐劲特的急性毒性试验中,一些敏感种类如点滴半眉虫(*Hemiphrys punctata*)、珍珠映毛虫(*Cinetochilum margaritaceum*)和球衣藻(*Chlamydomonas globosa*)在最小浓度下就已消失;而一些耐污种类,如毛板壳虫(*Coleps hirtus*)、卵形隐藻(*Cryptomonas coata*)弯曲袋鞭藻(*Peranema deflexum*)、银灰膜袋虫(*Cyclidium glaucoma*)、差异瘦尾虫(*Uroleptus dispar*)和溪马氏虫(*Mayorella riparia*),在 30 mg·L<sup>-1</sup> 的处理组中仍然存活.整个受污群落生物种类数减少而优势种的个体数量增多,群落结构变得简单化.这些耐受种在条件变化和极其恶劣的情况下存活,当适应环境后就大量的繁殖,从而个体数量增多.对于一些稳定的优势种可以作为某种或某些特定污染物的指示生物<sup>[19]</sup>.

表 1 锐劲特、高效氯氰菊酯对原生动物的 48h 急性毒性

Table 1 Toxicity tests results of Fipronil and Batα-cypermethrin (48h) on PFU protozoa community

单一毒物 (single toxicant)	回归方程 (regression equation)	相关系数 (correlation coefficient)	48h $LC_{50}$ / $mg \cdot L^{-1}$	<i>p</i>
高效氯氰菊酯(Batα-cypermethrin)	$y = 0.0205 + 0.013x$	$r = 0.994$	1.92	$< 0.0001$
锐劲特(Fipronil)	$y = 0.0294 + 0.00082x$	$r = 0.996$	35.83	$< 0.0001$

从试验结果可以看出,不同种类的生物对同一种化学品的敏感性不同;即使是同一种类的生物其对不同种类的化学品胁迫作用的反映不同,例如,凹扁拟斜管虫(*Chilodontopsis depressa*)对高效氯氰菊酯的胁迫作用为敏感种类,而在 40 mg·L<sup>-1</sup> 锐劲特中仍然存活.由此可见,如采用单一物种为受试生物进行化学品的毒性试验,选用不同种类的生物作为靶生物就会得出不同的毒性试验结果,有时甚至会得出相互矛盾的结果来<sup>[20,13]</sup>.蔡俊鹏<sup>[2]</sup>等通过对 DBS(十二烷基磺酸钠)对美洲四膜虫单种和种群水平的急性毒性进行比较得出:生物种类以种群形式出现,可增强对外界不利条件的抵抗能力,该结果与 Allee 氏规律<sup>[21]</sup>相符合.本实验采用微型生物群落作为受试对象,群落级毒性试验较单种受试生物的毒性试验法更能准确地反映生态系统受到的污染物胁迫以及由此产生的生态毒理效应,更具环境现实意义<sup>[3]</sup>.

### 2.2 联合毒性试验结果

联合毒性试验是在高效氯氰菊酯和锐劲特单种毒物毒性试验基础上进行的,混配溶液按高效氯氰菊酯和锐劲特等毒性比进行混合,分别以混配溶液中锐劲特和高效氯氰菊酯的浓度  $x$ ( $mg \cdot L^{-1}$ )对 48h 时原生动物的存活种数的倒数  $y$ ( $种^{-1}$ )作图,得到两条联合毒性效应曲线如图 3,图 4 所示.在联合毒性试验中存活的原生动物种数的倒数分别与混配溶液中的各单种物质之间存在一个线性关系,结

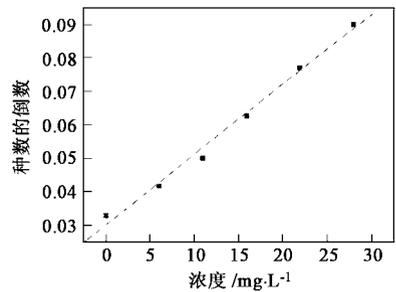


图 3 混配中锐劲特毒性效应

Fig.3 Toxicity effects of Fipronil in mixture on PFU protozoan community(48h)

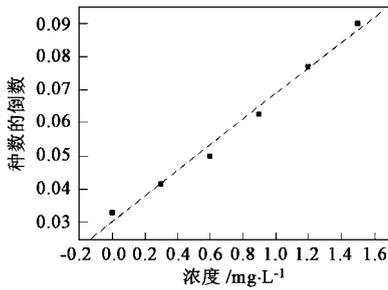


图 4 混配中高效氯氰菊酯毒性效应

Fig. 4 Toxicity effects of Batα-cypermethrin in mixture on PFU protozoan community(48h)

表 2 等毒性比混和的锐劲特和高效氯氰菊酯对原动物群落的 48h 联合急性毒性

Table 2 Acute joint toxicity tests results (48h) of Fipronil and Batα-cypermethrin on PFU protozoa community

混配溶液中毒物 (toxicant in mixture)	回归方程 ( regression equation)	相关系数 ( correlation coefficient)	48h LC <sub>50</sub> / mg·L <sup>-1</sup>	p
高效氯氰菊酯 Batα-cypermethrin	$y = 0.0302 + 0.0384 x$	$r = 0.993$	0.949	$p < 0.0001$
锐劲特 Fipronil	$y = 0.0301 + 0.0017 x$	$r = 0.995$	21.25	$p < 0.0001$

从功能类群上来分<sup>[23]</sup>,在受试群落中占优势的种群是 B 类,约占 52.6%,其次为 P 类占 21.1%,食藻者 A 类和 R 类分别占 13.2%和 10.5%,N 类占 2.6%。随毒物浓度的增大,N 类、P 类原动物在浓度低于半数致死浓度的溶液中就迅速消失,耐受种则均为 B 类,特别是溪马氏虫 (*Mayorella riparia*)、毛板壳虫 (*Coleps hirtus*)、小口钟虫 (*Vorticella microstoma*) 在试验最大毒物浓度下仍健康存活,个体数量增多。

### 2.3 联合毒性评价

表 3 联合毒性评价结果(48h)

Table 3 The evaluation results of joint toxicity tests of mixture(48h)

联合毒性试验 joint toxicity tests	单一毒物 LC <sub>50</sub> / mg·L <sup>-1</sup> single toxicant LC <sub>50</sub>	混合毒物 LC <sub>50</sub> / mg·L <sup>-1</sup> joint toxicant LC <sub>50</sub>	S	AI	评价结果 evaluation results
高效氯氰菊酯 ( Batα-cypermethrin) + 锐劲特 ( Fipronil)	1.92 5.83	0.949 21.25	1.08	- 0.08	拮抗作用( antagonis m)

拟除虫菊脂类农药作用于生物的神经理的钠离子通道,干扰神经传导功能<sup>[24]</sup>,可拮抗 γ-氨基丁酸介质的抑制作用,改变烟碱样胆碱能递质的传递,增加去甲肾上腺素的释放<sup>[25]</sup>,另有报道指出拟除虫菊脂类农药与乙酰胆碱受体有高度亲和力<sup>[26]</sup>,而锐劲特是通过与靶生物神经中枢细胞膜上 γ-氨基丁酸 ( GABA) 受体结合阻塞神经细胞的氯离子通道从而干扰中枢神经系统的正常功能而致毒<sup>[27,28]</sup>。2 种农药都作用于 GABA,可能在作用过程当中两者对受体的作用产生竞争作用,两者表现为弱的拮抗作用。有关锐劲特及其代谢产物对脊椎动物毒性已有多篇

果如表 2 所示,在联合毒性试验中,原动物达到半数致死时,锐劲特和高效氯氰菊酯的浓度分别为 21.25 mg·L<sup>-1</sup>和 0.949 mg·L<sup>-1</sup>。

在试验过程中可以观察到,随着毒物浓度的增大,原动物种类减少,群落结构也发生明显的变化,从而其功能类群也发生变化。根据 Pratt 等人<sup>[22]</sup>的观点,把原动物分为 6 个功能类群:食菌-碎屑者 ( Bactivoresdetrivores, B)、光合作用自养者 ( Photosynthetic autotrophs, P)、无选择性杂食者 ( Nonselective omnivores, N)、食藻者 ( Algivores, A)、食肉者 ( Predators Raptors, R)、腐生者 ( Saprotrophs, S)。

试验得到高效氯氰菊酯和锐劲特的单一毒性和联合毒性的 LC<sub>50</sub>后,用相加指数 AI 法来求混合物生物活性 S。联合毒性评价方法用公式  $S = A_m / A_n + B_m / B_n$  (  $m, n$  分别为混合毒物和单一毒物的 LC<sub>50</sub>) 求出 S。若  $S < 1$ ,相加指数  $AI = 1 / S - 1.0$ ;若  $S \geq 1$ ,  $AI = 1.0 - S$ 。用 AI 判断联合毒性的毒性效应,  $AI > 0$  时,为协同作用;  $AI < 0$  时,为拮抗作用;  $AI = 0$  时,为相加作用。本试验依据联合毒性试验结果得出锐劲特和高效氯氰菊酯的联合毒性相加指数  $AI = - 0.08$  小于 0,表现为弱的拮抗作用,如表 3 所示。

文献报导,发现锐劲特的代谢产物毒性要比母体大得多<sup>[27,28]</sup>,且其在稻田和鱼塘的降解半衰期较长,分别为 5.0d 和 77.2d<sup>[7]</sup>,高效氯氰菊酯的降解产物也比母体的毒性更大,有关其代谢产物对水环境微生物的毒性及致毒机理有待于进一步的研究。

### 3 结论

锐劲特和高效氯氰菊酯对原动物群落的联合毒性表现为弱的拮抗作用,它们进入水体中对原动物的群落结构和组成产生较大的影响,各个功能类群也受到不同程度的损伤,原动物群落结构随

锐劲特和高效氯氰菊酯浓度的增加而变得简单化. 在试验浓度范围内, 其中 B 功能类群比较耐受, 其优势度更加明显. 而 P 类和 R 类功能类群比较敏感, 在较高浓度的受试溶液中消失. 原生动物对不同毒物的敏感种和耐受种不同. 群落级毒性试验为生物群落中多种生物对毒物的综合反映, 所以 PFU 原生动物群落毒性试验方法对水生生态系统有较高的模拟度和较大的环境真实性.

#### 参考文献:

- [ 1 ] Cairns J Jr, Dahlberg M L, Dickson K L, *et al.* The relationship of freshwater protozoa communities to the MacArthur Wilson equilibrium model[ J ]. *Amer. Nat.*, 1969, **103**: 439 ~ 454.
- [ 2 ] 蔡俊鹏, 沈蕴芬, 顾曼如. 十二烷基磺酸钠( DBS) 对原生动物的毒性效应[ J ]. *水生生物学报*, 1989, **13**(3): 218 ~ 233.
- [ 3 ] Cairns J J, McCormick P V. The use of community and ecosystem-level end points in environmental hazard assessment; a scientific and regulatory evaluation[ J ]. *Environ. Auditor.*, 1991, **2**: 239 ~ 248.
- [ 4 ] Key P B, Chung K W, Opatkiewicz A D, *et al.* Toxicity of the insecticides fipronil and endosulfan to selected life stages of the grass shrimp( *Palaeomonetes pugio*) [ J ]. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2003, **70**: 533 ~ 540.
- [ 5 ] Shan Z, Wang L, Cai D, *et al.* Impact of fipronil on crustacean aquatic organisms in a paddy field-fishpond ecosystem[ J ]. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2003, **70**: 746 ~ 752.
- [ 6 ] John W C, Mechanisms for selective toxicity of fipronil insecticide and its sulfone metabolite and desulfinyl photoproduct[ J ]. *Chem. Res. Toxicol.*, 1998, **11**: 1529 ~ 1535.
- [ 7 ] 单正军, 王连生, 蔡道基, 等. 新型杀虫剂锐劲特农药对甲壳类水生生物影响研究[ J ]. *中国农业科学*, 2002, **35**(8): 949 ~ 952.
- [ 8 ] 熊丽, 吴振斌, 况琪军, 等. 氯氰菊酯对斜栅藻的毒性研究[ J ]. *水生生物学报*, 2002, **26**(1): 66 ~ 72.
- [ 9 ] 翟良安. 八种农药对鱼类和大型蚤毒性致毒研究[ J ]. *淡水渔业*, 1989, **149**: 18 ~ 20.
- [ 10 ] 王朝晖, 尹伊伟, 徐忠能, 周洁, 张琦, 张冬朋. 8 种拟除虫菊脂农药对稀有鮎鲫的急性、亚慢性研究[ J ]. *应用与环境生物学报*, 1998, **4**(4): 379 ~ 382.
- [ 11 ] Hava Kalsuj. Toxicity of pyrethroid insecticides to fish[ J ]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1989, **8**: 381 ~ 391.
- [ 12 ] Cairns J Jr. Are single species toxicity tests alone adequate for estimating environmental hazard[ J ]? *Hydrobiologia*, 1983, **100**: 47 ~ 57.
- [ 13 ] Nicolau A, Mota M, Lima L. Physiological responses of *Tetrahymena pyriformis* to copper, zinc, cycloheximide and tri-tonx-100[ J ]. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 1999, **30**: 209 ~ 216.
- [ 14 ] 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**: 469 ~ 473.
- [ 15 ] Kargin F, Cogun H. Metal interactions during accumulation and elimination of zinc and cadmium in tissues of the freshwater fish *Tilapia nilotica*[ J ]. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1999, **63**: 511 ~ 519.
- [ 16 ] Shehata S A, Lasheen M R, Kobbia I A, *et al.* Toxic effect of certain metals mixture on some physiological and morphological characteristics of freshwater algae[ J ]. *Water, Air and Soil Pollution*, 1999, **110**: 119 ~ 135.
- [ 17 ] MacArthur R H, Wilson E O. The theory of island biogeography. Princeton: Princeton University Press, 1967.
- [ 18 ] Marking L L. An Approach for Additive Toxicity of Chemical Mixtures[ A ]. In: Mayor L L, Hamelink J L. *Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation*; ASTM STP 634[ C ]. American Society for Testing and Materials. Philadelphia. 1977, PA 99.
- [ 19 ] Foissner W. Soil protozoa as bioindicators in ecosystems under human influence[ A ]. In: Darbyshire J F. *Soil Protozoa*[ C ]. Wallingford, Oxon: CBA International, 1994. 146 ~ 187.
- [ 20 ] Modoni P, Estebe G, Gorbi G. Acute toxicity of cadmium, copper, mercury and zinc to ciliates from activated sludge plants[ J ]. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1992, **49**: 900 ~ 905.
- [ 21 ] A P H A, A W W A, W P C F. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater[ S ]. 15th ed. Washington D.C.: 1980. 530 ~ 532, 641 ~ 643.
- [ 22 ] Pratt J R, Carins J J. Functions groups in the protozoa: roles in differing ecosystems[ J ]. *Protozool*, 1985, **82**: 415 ~ 423.
- [ 23 ] 沈蕴芬, 章宗涉, 龚循矩, 等. 微型生物监测新技术[ M ]. 北京: 中国建筑工业出版社, 1990. 38 ~ 48.
- [ 24 ] Miller T A, Adams M E. Mode of action of tyrethroids[ A ]. in: Coats J R. *Insecticide mode of action*[ C ]. New York: Academic press. 1982.
- [ 25 ] Hayes WJ, Laws ER. *Handbook of Pesticides Toxicology*[ M ]. New York: San Francisco Academic Press, 1991. 588.
- [ 26 ] Abbassy M A, Eldefrawi M E, Elderfrawi A T. Pyrethroid action on the nicotinic acetylcholine receptor/channel[ J ]. *Pestic. Biochem. Phys.*, 1983, **19**: 299 ~ 308.
- [ 27 ] Durham E W, Michael E S, Siegfried B D. Toxicity and neurophysiological effects of Fipronil and its oxidative sulfone metabolite on european corn borer larvae[ J ]. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 2001, **71**: 97 ~ 106.
- [ 28 ] Cole L M, Nicholson R A, Casida J F. Action of phenylpyrazole insecticide at the GABA-gated chloride channel[ J ]. *Pestic. Biochem. Phys.*, 1993, **46**: 47 ~ 54.
- [ 29 ] EPA. New pesticide fact sheet. EPA-737 F-96-005, Office of Pesticide Programs Washington D. C.: 1996.