

丁草胺和苄嘧磺隆对钝顶螺旋藻的毒性效应研究

贺鸿志^{1,2,3}, 余 景², 骆世明^{1,3}, 李拥军⁴, 邱晓辉^{1,3}, 罗琼珠^{1,3}, 黎华寿^{1,3*}

(1.华南农业大学农业部生态农业重点开放实验室, 广州 510642; 2.广东省渔业生态环境重点实验室, 广州 510300; 3.广东省高等学校农业生态与农村环境重点实验室, 广州 510642; 4.中山市农产品质量监督检验所, 广东 中山 528403)

摘要:采用实验室摇瓶实验法研究了除草剂丁草胺和苄嘧磺隆对钝顶螺旋藻的毒性效应。结果表明, 丁草胺浓度与藻生长(以OD₅₆₀计)存在明显的剂量-效应关系, 64 mg·L⁻¹ 丁草胺严重抑制藻生长, 比生长速率为0.111 d⁻¹, 仅为对照的24%。在7 d实验时间内EC₅₀值随染毒时间延长呈指数下降, 96 h的EC₅₀值为45.4 mg·L⁻¹, 到第7 d降为15.2 mg·L⁻¹。与丁草胺相似, 在实验浓度范围内随浓度增加, 苄嘧磺隆对钝顶螺旋藻的生长抑制作用逐渐增强, 最高浓度44.8 mg·L⁻¹处理的比生长速率为0.458 d⁻¹, 约为对照的82%。在8 d实验时间内EC₅₀值随染毒时间延长呈指数增长, 96 h的EC₅₀值为51.3 mg·L⁻¹, 到第8 d达到215 mg·L⁻¹。两种除草剂在较高浓度条件下均使钝顶螺旋藻藻丝变短, 部分藻丝由螺旋型变为直线型, 随浓度增加直线型藻丝逐渐增加, 到最高浓度几乎全部变为直线型, 且藻细胞颜色变浅。依据96 h-EC₅₀值判断丁草胺对钝顶螺旋藻的毒性大于苄嘧磺隆, 二者毒性强度均为中等, 但随着染毒时间延长丁草胺的毒性作用增强而苄嘧磺隆的毒性逐渐降低。同时, 高浓度的两种除草剂使部分藻丝断裂变短, 且诱导藻丝形态由螺旋型向直线型转变。

关键词:丁草胺;苄嘧磺隆;钝顶螺旋藻;毒性

中图分类号:X592 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2011)06-1070-06

Toxic Effects of Butachlor and Bensulfuron Methyl on Cyanobacterium *Spirulina platensis*

HE Hong-zhi^{1,2,3}, YU Jing², LUO Shi-ming^{1,3}, LI Yong-jun⁴, QIU Xiao-hui^{1,3}, LUO Qiong-zhu^{1,3}, LI Hua-shou^{1,3*}

(1.Key Laboratory of Ecological Agriculture of Ministry of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Key Laboratory of Fishery Ecology and Environment, Guangdong Province, Guangzhou 510300, China; 3.Key Laboratory of Agroecology and Rural Environment of Guangdong Regular Higher Education Institutions, Guangzhou 510642, China; 4.Zhongshan Quality Supervision & Inspection Institute of Agricultural Products, Zhongshan 528403, China)

Abstract: The toxic effects of butachlor and bensulfuron methyl on *S. platensis* were studied using shaking flask method. It showed that significant dosage effect of butachlor on algal growth(expressed in OD₅₆₀) existed. The growth of *S. platensis* exposed under 64 mg·L⁻¹ butachlor was severely inhibited. Specific growth rate was 0.111 d⁻¹. It was only 24% of the control. During the 7 d experimental period, EC₅₀ decreased exponentially. The EC₅₀ in 96 h was 45.4 mg·L⁻¹, and it dropped to 15.2 mg·L⁻¹ in day 7. Like butachlor, dosage effect of bensulfuron methyl on growth inhabitation on *S. platensis* was also significant. Specific growth rate under 44.8 mg·L⁻¹ treatment was 0.458 d⁻¹. It was 82% of the control. During the 8 d experimental period, EC₅₀ value increased exponentially. EC₅₀ in 96 h was 51.3 mg·L⁻¹, and EC₅₀ in day 8 was 215 mg·L⁻¹. When treated with these two herbicides, algal filaments of *S. platensis* became shorter, and some of the spiraled filaments changed into a linear form. Percentage of linear algal filaments increased while herbicides concentration increased. Nearly all algal filaments changed into linear form with much lighter color in the algal culture with the highest concentration of herbicides. Although toxicity of the two herbicides to *S. platensis* was moderate, butachlor exhibited higher toxicity than bensulfuron methyl to the alga according to 96 h-EC₅₀. With longer exposure time, toxicity of butachlor increased while that of bensulfuron methyl decreased gradually. Lots of spiraled filaments of *S. platensis* switched to linear ones under high concentration treatments, and some filaments even disconnected and became much shorter.

Keywords:butachlor; bensulfuron methyl; *Spirulina platensis*; toxicity

收稿日期:2010-11-29

基金项目: 国家自然科学基金(31000246, 30870413); 广东省渔业生态环境重点实验室开放基金(LFE-2009-07); 广东省自然科学基金(9451064201003803); 华南农业大学校长科学基金(2008K022)

作者简介: 贺鸿志(1977—), 男, 湖南娄底人, 博士, 讲师, 主要从事污染生态学研究。E-mail: scauhz@scau.edu.cn

* 通讯作者: 黎华寿 E-mail: lihuashou@scau.edu.cn

我国除草剂的使用面积和施用量正不断增加,但除草剂只有部分真正发挥药效,剩余部分通过挥发作用、吸附作用以及地表径流和雨水冲刷等方式进入环境,其潜在的生态风险日益受到人们的关注^[1-13]。丁草胺是我国生产和使用量最大的除草剂品种^[15],已有研究表明丁草胺对鱼类、蜘蛛和某些藻类等非靶标生物具有显著的毒害作用^[1-5]。苄嘧磺隆具有活性高、杀草谱广等特性,应用广泛,但由于具弱酸性,土壤对其吸附能力弱,易通过排灌水污染水体。如 Okamoto 等检测到日本河水和湖水中的苄嘧磺隆浓度在 0.1~2.3 mg·L⁻¹ 范围^[16]。研究表明苄嘧磺隆对土壤微生物、蕨类和许多藻类等非靶标生物具有显著的毒害作用^[7-10]。

微藻是水生生态系统中主要的初级生产者,对生态系统的平衡和稳定起着至关重要的作用。微藻生存状况直接反应水生生态系统的健康状况,使其成为评价水环境质量的重要指标。研究表明除草剂可以通过抑制生长、大分子合成、光合作用、氮酶活性、氨基酸合成路径,致突变作用,甚至竞争消除等方式影响藻类生存^[17]。本文选取两种量大面广的除草剂丁草胺和苄嘧磺隆,研究其对钝顶螺旋藻的生长和形态的影响,以评价两种除草剂对该藻的毒性。

1 材料与方法

1.1 钝顶螺旋藻的培养

钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)购自暨南大学水生生物研究所。培养基配方采用 Zarrouk 配方,人工气候箱中培养,光照强度(3 000±60)lx,光:暗=12 h:12 h,温度 25 ℃,湿度 80%。实验所用玻璃器皿均经过稀盐酸浸泡过夜后用蒸馏水冲洗干净。250 mL 锥形瓶加入 100 mL 培养基,接种对数生长期的藻后,静置培养,每日摇瓶 4~6 次。

1.2 主要试剂

丁草胺(92.2%)和苄嘧磺隆(96.8%)购于上海市农药研究所。其他试剂包括丙酮、盐酸、Na₂SO₄、NaCl、MgSO₄、K₂SO₄、NaHCO₃、EDTA、CaCl₂·2H₂O、FeSO₄·7H₂O、K₂HPO₄·3H₂O,均为分析纯试剂,培养配制用水为电阻率达 16.22 MΩ·cm⁻¹ 的纯水(U-nique-S30 纯水系统)。

1.3 器材设备

三角瓶、容量瓶、移液枪、显微镜(Olympus CX31)、RXZ 型智能人工气候箱(宁波东南)、752 可见分光光度计(上海精密科学)、JB-Z 型恒温磁力搅拌器(上海雷磁新泾)、电子天平(美多利斯)。

1.4 除草剂的配制

准确称取 139 mg 丁草胺标准品溶解于 1 mL 分析纯丙酮中,即得到浓度为 128 mg·mL⁻¹ 丁草胺母液。准确称取 21.7 mg 苄嘧磺隆标准品溶解于 1 mL 分析纯二氯甲烷中,即得到浓度为 11.2 mg·mL⁻¹ 苄嘧磺隆母液。

1.5 急性毒性实验设计

取对数生长期的藻细胞接种,将母液稀释到 OD₅₆₀=0.05,分别取 100 mL 装入 250 mL 三角瓶中,添加不同体积的除草剂母液于培养液中可得到不同浓度。经过预实验,丁草胺浓度设为 0、2、4、8、16、32、64 mg·L⁻¹。对于苄嘧磺隆,考虑到其溶解度较小,浓度设为 0、1.4、2.8、5.6、11.2、22.4、44.8 mg·L⁻¹。每个浓度均设 3 个重复。

1.6 生长曲线的绘制及比生长速率(μ)计算。

预实验表明 560 nm 处的吸光度值 OD₅₆₀ 和念珠藻干重($W/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)具有很好的相关性,相关方程为:

$$W=22.2+639*\text{OD}_{560}(r=0.999, P<0.001, n=7)$$

干重的测定采用 Zargar 和 Dar^[10]的方法。因此,可以用 O_{D560} 值代表该藻的生物量,实验时每日在可见光分光光度计上测定 OD₅₆₀,各重复取样测定 5 次,取平均值,绘制生长曲线。比生长速率(μ)的计算方法如下:

$$\mu(\text{d}^{-1})=(\ln \text{OD}_t - \ln \text{OD}_0)/(t-t_0)$$

其中,OD_t、OD₀ 分别为 t 时刻(t)和接种时(t_0)的 O_{D560} 值。

1.7 藻形态观察

培养实验完成后,取样品在光学显微镜下观察钝顶螺旋藻的形态,并拍照。

1.8 除草剂对钝顶螺旋藻 EC₅₀ 的计算

取培养 96 h 后的 O_{D560} 数据,将其作为钝顶螺旋藻现存量的指标,计算不同浓度除草剂对钝顶螺旋藻的抑制率:(对照吸光度-处理吸光度)/对照吸光度。将抑制率与其浓度的对数值进行回归,通过反应百分率与概率单位对照表查出相应的几率单位,进行回归分析,得到各时间段的 EC₅₀ 值。

1.9 数据分析

作图采用软件 Origin 6.0 进行,统计分析采用 SPSS13.0 软件。

2 结果与分析

2.1 除草剂对钝顶螺旋藻生长的影响

不同丁草胺浓度处理的钝顶螺旋藻生长曲线见

图1,比生长速率见表1。从图1和表1可知,小于4 mg·L⁻¹ 丁草胺对钝顶螺旋藻生长的影响很小,甚至观察到2 mg·L⁻¹ 丁草胺在实验的前段对藻生长有微弱的促进作用。8 mg·L⁻¹ 丁草胺开始显著抑制藻的生长,且随着处理浓度的增加,抑制作用逐渐增强。到64 mg·L⁻¹ 即严重抑制钝顶螺旋藻生长,其比生长速率也相应逐渐降低,64 mg·L⁻¹ 丁草胺处理时比生长速率为0.111 d⁻¹,仅为对照的24%。

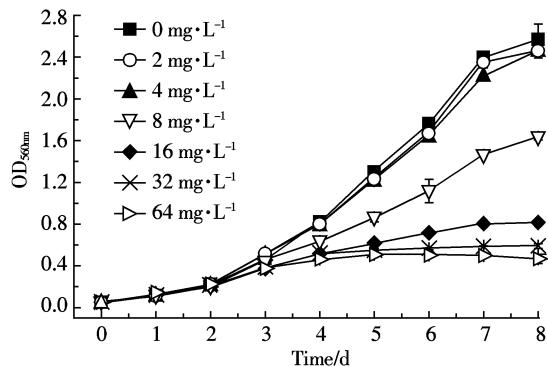


图1 不同丁草胺浓度处理的钝顶螺旋藻生长曲线

Figure 1 Growth curves of *S. platensis* treated with different concentrations of butachlor

表1 不同浓度丁草胺条件下钝顶螺旋藻的比生长速率

Table 1 Specific growth rates of *S. platensis* treated with different concentrations of butachlor

浓度/mg·L ⁻¹	0	2	4	8	16	32	64
μ/d ⁻¹	0.467	0.447	0.446	0.372	0.219	0.144	0.111

不同苄嘧磺隆浓度处理的钝顶螺旋藻生长曲线见图2,比生长速率见表2。从图2和表2可知,小于2.8 mg·L⁻¹ 苄嘧磺隆对钝顶螺旋藻生长的影响很小,甚至观察到在实验的前段对藻生长有微弱的促进作用。大于5.6 mg·L⁻¹ 的苄嘧磺隆在实验后期开始抑制

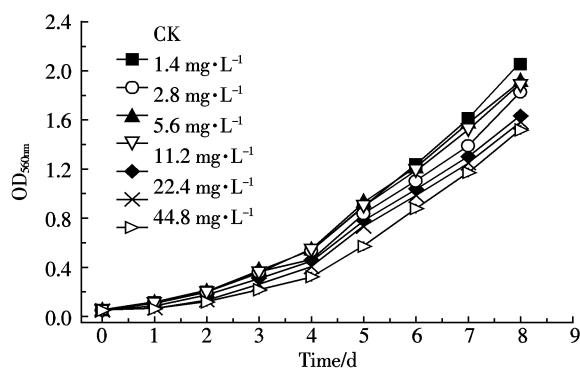


图2 不同苄嘧磺隆浓度处理的钝顶螺旋藻生长曲线

Figure 2 Growth curves of *S. platensis* treated with different concentrations of bensulfuron methyl

藻的生长,且随着处理浓度的增加,抑制作用逐渐增强。到44.8 mg·L⁻¹ 即显著抑制钝顶螺旋藻生长,其比生长速率也相应的逐渐降低,44.8 mg·L⁻¹ 苄嘧磺隆处理时比生长速率为0.458 d⁻¹,约为对照的82%。

表2 不同浓度苄嘧磺隆条件下钝顶螺旋藻的比生长速率

Table 2 Specific growth rates of *S. platensis* treated with different concentrations of bensulfuron methyl

浓度/mg·L ⁻¹	0	1.4	2.8	5.6	11.2	22.4	44.8
μ/d ⁻¹	0.561	0.509	0.528	0.527	0.513	0.482	0.458

2.2 除草剂对钝顶螺旋藻 EC₅₀ 值随时间的变化

不同时间两种除草剂对钝顶螺旋藻的EC₅₀值变化情况见图3和图4。从图3可知,在实验进行的7 d内,丁草胺对钝顶螺旋藻的EC₅₀值呈现急剧降低的趋势,第1 d EC₅₀值为82 mg·L⁻¹,到第7 d,EC₅₀值降至最低,仅为15.2 mg·L⁻¹左右。说明丁草胺对钝顶螺旋藻的毒性随着染毒时间延长而增强。

方程 $Y=104\exp(-0.353T)$ 可以较好地拟合 EC₅₀ 值(Y)随时间(T)的变化趋势($R^2=0.831^{**}$),说明 EC₅₀ 值随时间延长呈指数式降低。

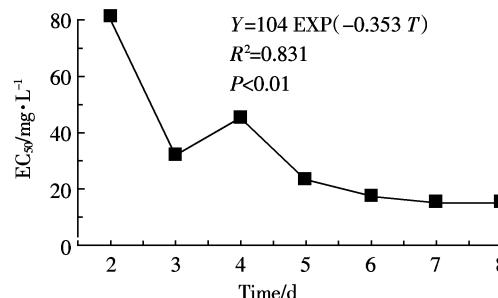


图3 不同时段丁草胺对钝顶螺旋藻的 EC₅₀ 值

Figure 3 EC₅₀ value of butachlor on *S. platensis* during different period of the experiment

从图4可知,在实验进行的8 d内,苄嘧磺隆对钝顶螺旋藻的EC₅₀值呈现逐渐升高的趋势,第2 d EC₅₀值为19.6 mg·L⁻¹,到第8 d,EC₅₀值达到最高值215 mg·L⁻¹。说明丁草胺对钝顶螺旋藻的毒性随着染毒时间延长显著降低。

方程 $Y=24.3\exp(0.265T)$ 可以很好的拟合 EC₅₀ 值(Y)随时间(T)的变化趋势($R^2=0.925^{**}$),说明 EC₅₀ 值随时间延长呈指数式升高。

2.3 除草剂对钝顶螺旋藻藻体的影响

不同浓度丁草胺处理的藻体显微照片见图5,可发现CK正常情况下的藻体为螺旋型,藻丝较长,藻细胞饱满,颜色较深,具有较好的运动能力。在4 mg·

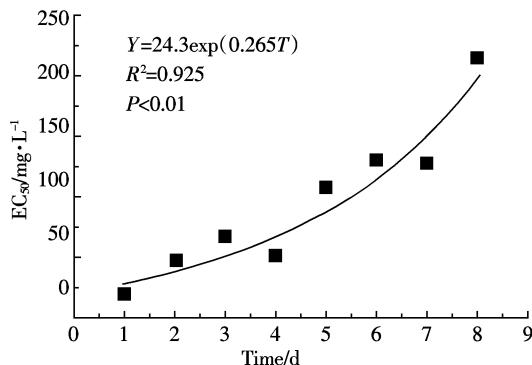
图4 不同时段苄嘧磺隆对钝顶螺旋藻的EC₅₀值

Figure 4 EC₅₀ value of bensulfuron methyl on *S. platensis* during different period of the experiment

L⁻¹ 丁草胺处理后,钝顶螺旋藻藻丝变短,可能是除草剂使藻丝断裂所致,且出现了少量的直线型藻丝。随丁草胺浓度增加直线型藻丝所占比例急剧增加,当浓度达到64 mg·L⁻¹时,藻丝几乎全部都变为直线形(图5-C₁),运动能力丧失,藻细胞颜色变淡(图5-C₂)。这说明高浓度丁草胺不但破坏钝顶螺旋藻的藻丝形态、抑制其运动能力,而且对细胞内的色素合成造成了一定的影响。

不同浓度苄嘧磺隆处理的藻体显微照片见图6,从图6可知,相比于对照处理,较高浓度的苄嘧磺隆处理使钝顶螺旋藻部分藻丝断裂变短,但并不如丁草胺的影响明显。同时,与丁草胺处理相似也出现了直线型藻丝,并随苄嘧磺隆浓度升高,直线型藻丝比例

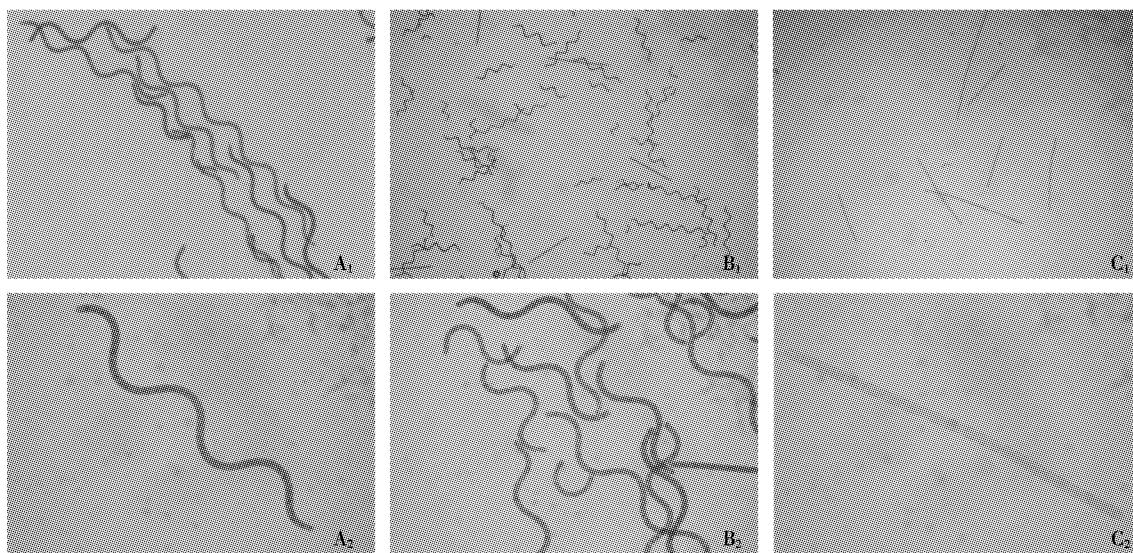
急剧增加,到最高浓度44.8 mg·L⁻¹时藻丝几乎全部变为直线型,丧失运动能力,但藻细胞颜色变化不明显。这说明苄嘧磺隆对钝顶螺旋藻的藻丝形态造成破坏,并抑制其运动能力。

3 讨论

3.1 除草剂对钝顶螺旋藻生长的影响

丁草胺对微藻生长的影响报道已有很多,实验结果差异很大。如 Mishra 和 Pandey^[18]发现丁草胺对4种固氮蓝藻的致死剂量为6~8 mg·L⁻¹。陈林等^[14]研究则发现小于5 mg·L⁻¹ 丁草胺对葛仙米生长具有促进作用,大于5 mg·L⁻¹即开始抑制葛仙米生长,达50 mg·L⁻¹则严重抑制葛仙米生长。Singh 等^[19]研究表明丁草胺对5种蓝藻的96 h-EC₅₀值在9.7~15 mg·L⁻¹范围内,致死剂量则在15~25 mg·L⁻¹范围内。王秀红等^[12]的研究则发现4~20 mg·L⁻¹ 丁草胺促进3种鱼腥藻的生长,大于20 mg·L⁻¹则表现为抑制。Zargar 和 Dar^[5]则发现110 mg·L⁻¹ 丁草胺对念珠藻的生长没有明显的影响。我们的实验结果表明丁草胺对钝顶螺旋藻96 h-EC₅₀值为45.4 mg·L⁻¹。

关于苄嘧磺隆对微藻生长的影响方面,岳霞丽等^[13]研究表明小于1 mg·L⁻¹的苄嘧磺隆促进蛋白核小球藻的生长,大于5 mg·L⁻¹则显著抑制生长,96 h-EC₅₀值为15.7 mg·L⁻¹。对水华鱼腥藻的研究发现,0.5 mg·L⁻¹ 苄嘧磺隆显著抑制该藻生长,达10 mg·L⁻¹几

(A:Control, B:4 mg·L⁻¹, C:64 mg·L⁻¹,下标“1”为放大100倍,下标“2”为放大200倍,下同)

(A:Control, B:4 mg·L⁻¹, C:64 mg·L⁻¹, subscript “1” means that 100-fold magnification observation and subscript “2” means that 200-fold. The same below.)

图5 不同浓度丁草胺处理后的钝顶螺旋藻照片

Figure 5 Photographs of *S. platensis* treated with different concentrations of butachlor

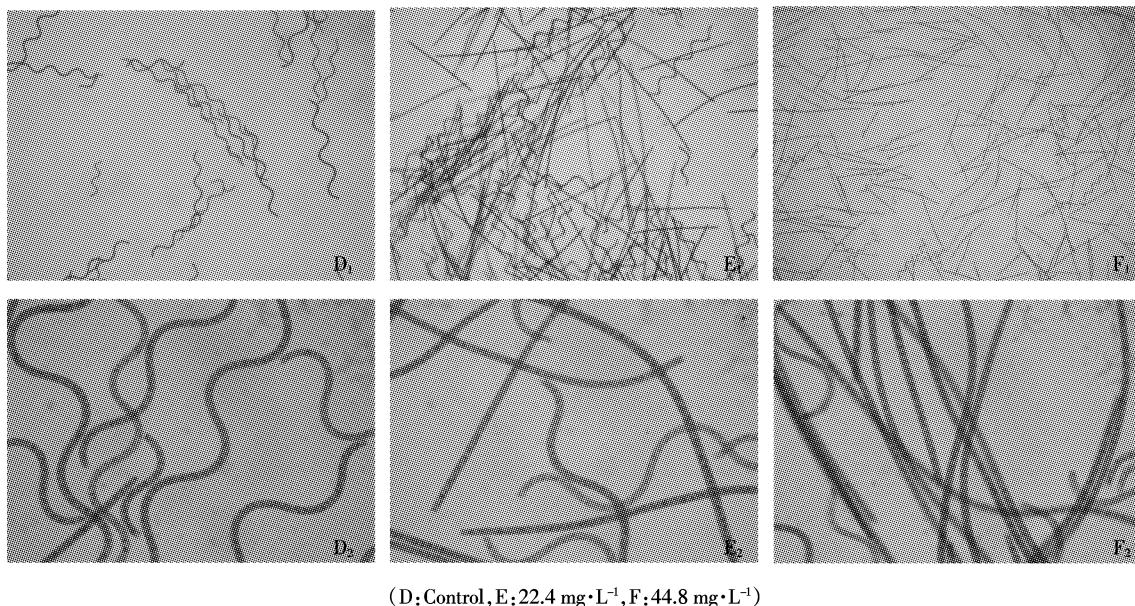
(D: Control, E: 22.4 mg·L⁻¹, F: 44.8 mg·L⁻¹)

图6 不同浓度苄嘧磺隆处理后的钝顶螺旋藻照片

Figure 6 Photographs of *S. platensis* treated with different concentrations of bensulfuron methyl

乎完全抑制其生长^[14]。谢晓梅等^[7]则发现较大剂量的苄嘧磺隆(375 g·hm⁻² 和 750 g·hm⁻²)处理使土壤中异养型细菌显著减少。Sabater 等^[10]研究发现苄嘧磺隆对两种小球藻和两种栅藻具有很强的毒性,96 h-EC₅₀值在0.015~6.2 mg·L⁻¹范围内,其中对 *Scenedesmus acutus* 的毒性最强,其96 h-EC₅₀值仅为0.015 mg·L⁻¹。然而 Chen 等^[11]则发现苄嘧磺隆对葛仙米的96 h-EC₅₀值为99 μmol·L⁻¹(约为40.6 mg·L⁻¹),200 μmol·L⁻¹处理后其比生长率减少至对照的27%。这与我们的实验结果苄嘧磺隆对钝顶螺旋藻96 h-EC₅₀值51.3 mg·L⁻¹相近。

综上可知,丁草胺和苄嘧磺隆两种除草剂对于不同微藻的毒性存在很大差异。除草剂可能对微藻的很多关键代谢活动产生不同的影响,藻类对除草剂的敏感性差异可能与藻的种类、除草剂的类型及其化学式不同有关^[17]。丁草胺的一般推荐剂量约为3~10 mg·L⁻¹,水体残留量应该低于5 mg·L⁻¹,而我们的实验结果表明低于4 mg·L⁻¹丁草胺对螺旋藻的生长影响很小。但由于苄嘧磺隆的高效性,在农业生产上的推荐用量很低(小于0.5 mg·L⁻¹),其残留浓度也相对较小,而本实验结果表明小于1.4 mg·L⁻¹苄嘧磺隆对钝顶螺旋藻生长的影响很小,甚至有促进作用。这都说明两种除草剂在实际应用中对该藻的影响较小,相对安全。

关于除草剂对藻类 EC₅₀值的变化,已有一些报道,如 Shabana 和 Abou-waly^[20]研究发现特丁津和特丁净对灰色念珠藻的 EC₅₀值均随时间延长而急剧下

降(即毒性增强)。Phlips 等^[21]也发现杀草快对水华鱼腥藻的生长抑制在第7 d时比第3 d弱。而本实验结果表明随着染毒时间延长丁草胺 EC₅₀值降低而苄嘧磺隆的 EC₅₀值迅速升高,表现为完全相反的变化趋势。这可能与两种除草剂化学结构差异和作用方式不同有关,苄嘧磺隆毒性的降低可能与螺旋藻对该除草剂的降解有关,有待进一步研究。

3.2 除草剂对钝顶螺旋藻形态的影响

实验结果表明,在较高的浓度条件下两种除草剂处理使钝顶螺旋藻丝体断裂变短,多数藻丝由螺旋型转变为直线型,丧失该藻特有的运动能力。关于钝顶螺旋藻藻丝体的形态变化已有一些研究报道,研究表明用化学诱变剂(如亚硝基肌^[22]和甲基磺酸乙酯^[23])处理或进行⁶⁰Co-γ射线^[24]、激光^[25]照射等物理诱变可导致其形态的转变。这正是螺旋藻诱变育种的重要手段,虽然 Wang 等^[24]的研究发现在某些情况下这种形态的转变是可逆的。本实验结果表明丁草胺和苄嘧磺隆两种除草剂可以作为螺旋藻诱变育种的化学诱变剂。

4 结论

依据96 h-EC₅₀值判断丁草胺对钝顶螺旋藻的毒性大于苄嘧磺隆的,毒性强度均为中等,但是随着染毒时间延长丁草胺的毒性作用增强而苄嘧磺隆的毒性逐渐降低。同时,高浓度的两种除草剂使藻丝断裂变短,且均诱导藻丝形态向直线型转变。

参考文献:

- [1] 戴灵鹏, 张磊, 陈露露, 等. 铜与乙草胺对浮萍的联合毒性效应[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(4): 772–776.
DAI Ling-peng, ZHANG Lei, CHEN Lu-lu, et al. Joint toxic effects of copper and acetochlor on *Lemna minor* L[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(4): 772–776.
- [2] 孟顺龙, 陈家长, 冷春梅. 除草剂阿特拉津与丁草胺对麦穗鱼的联合毒性研究[J]. 环境污染与防治, 2007, 29(4): 254–260.
MENG Shun-long, CHEN Jia-zhang, LENG Chun-mei. Toxic effects of herbicides atrazine and butachlor on topmouth gudgeon (*Pseudorasbora parva*) [J]. *Environmental Pollution & Control*, 2007, 29(4): 254–260.
- [3] 张征田, 彭宇, 梁子安, 等. 除草剂丁草胺对常见稻田蜘蛛毒性的测定及对其生长发育的影响[J]. 动物学杂志, 2008, 43(5): 10–11.
ZHANG Zheng-tian, PENG Yu, LIANG Zi-an, et al. The toxicity and effects of herbicide butachlor on growth and development of spiders in the rice field[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2008, 43(5): 10–11.
- [4] 陈林, 毕永红, 胡征宇. 葛仙米对丁草胺胁迫的响应[J]. 武汉大学学报(理学版), 2007, 53(2): 219–223.
CHEN Lin, BI Yong-hong, HU Zheng-yu. Response of *Nostoc sphaeroides* to butachlor stress[J]. *Journal of Wuhan University(Natural Science Edition)*, 2007, 53(2): 219–223.
- [5] 解开治, 徐培智, 陈建生, 等. 丁草胺和毒死蜱复合污染对稻田土壤细菌群落多样性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(4): 686–690.
XIE Kai-zhi, XU Pei-zhi, CHEN Jian-sheng, et al. Effect of combined pollution of butachlor and chloryrifos on soil bacteria diversity in paddy field[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(4): 686–690.
- [6] Zargar M Y, Dar G H. Effect of benthiocarb and butachlor on growth and nitrogen fixation by cyanobacteria[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1990, 45: 232–234.
- [7] 谢晓梅, 廖敏, 黄昌勇, 等. 除草剂苄嘧磺隆对稻田土壤微生物活性和生物化学特性的影响[J]. 中国水稻科学, 2004, 18(1): 67–72.
XIE Xiao-mei, LIAO Min, HUANG Chang-yong, et al. Effects of benzulfuron-methyl on soil microbial activity and biochemical characteristics in paddy[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2004, 18(1): 67–72.
- [8] Aidaa M, Ikeda H, Itoh K, et al. Effects of five rice herbicides on the growth of two threatened aquatic ferns[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006, 63: 463–468.
- [9] Nystrom B, Bjornsrater B, Blanck H. Effects of sulfonylurea herbicides on non-target aquatic micro-organisms growth inhibition of micro-algae and short-term inhibition of adenine and thymidine incorporation in periphyton communities[J]. *Aquatic Toxicology*, 1999, 47: 9–22.
- [10] Sabater C, Cuesta A, Carrasco R. Effects of bensulfuron-methyl and cinosulfuron on growth of four freshwater species of phytoplankton[J]. *Chemosphere*, 2002, 46: 953–960.
- [11] Chen Z, Juneau P, Qiu B. Effects of three pesticides on the growth, photosynthesis and photoinhibition of the edible cyanobacterium Ge-Xian-Mi (*Nostoc*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2007, 81: 256–265.
- [12] 王秀红, 沈健英, 陆贻通. 稻田除草剂对固氮蓝藻的毒性研究[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2004, 22(4): 400–405.
WANG Xiu-hong, SHEN Jian-ying, LU Yi-tong. Study on herbicides in rice fields to toxicity of fixing blue-green algae[J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University(Agricultural Science)*, 2004, 22(4): 400–405.
- [13] 岳霞丽, 张新萍, 胡先文, 等. 苞嘧磺隆对蛋白核小球藻的生长效应研究[J]. 中国农业科学, 2006, 39(9): 1823–1827.
YUE Xia-li, ZHANG Xin-ping, HU Xian-wen, et al. Effect of bensulfuron-methyl on growth of *Chlorella pyrenoidosa*[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(9): 1823–1827.
- [14] 岳霞丽, 张新萍, 胡先文, 等. 甲磺隆和苄嘧磺隆对水华鱼腥藻生长的抑制作用研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(8): 175–178.
YUE Xia-li, ZHANG Xin-ping, HU Xian-wen, et al. Inhibitory effects on *Anabaena flos-aquae* growth by metsulfuron-methyl and bensulfuron-methyl[J]. *Transactions of the CSAE*, 2006, 22(8): 175–178.
- [15] 胡笑形. 我国农药工业的现状与发展方向[J]. 农药, 1998, 37(6): 7–10.
HU Xiao-xing. The current situation and developing trends of pesticide industry in China[J]. *Pesticides*, 1998, 37(6): 7–10.
- [16] Okamoto Y, Fisher R L, Armbrust K L, et al. Surface water monitoring survey for bensulfuron-methyl applied in paddy fields[J]. *Nippon Noyaku Gakkaishi*, 1998, 23(3): 235–240.
- [17] Singh S, Datta P. Screening and selection of most potent diazotrophic cyanobacterial isolate exhibiting natural tolerance to rice field herbicides for exploitation as biofertilizer[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2006, 46(3): 219–225.
- [18] Mishra A K, Pandey A B. Toxicity of three herbicides to some nitrogen-fixing cyanobacteria[J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 1989, 17(2): 236–246.
- [19] Singh S, Datta P, Patel R. Survival and growth of diazotrophic cyanobacterial isolates exposed to rice-field herbicides [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, 70: 1052–1058.
- [20] Shabana E F, Abou-waly H. Growth and some physiological aspects of *Nostoc muscorum* in respect to mixtures of two trazine herbicides [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1995, 54: 273–280.
- [21] Philips E J, Hansen P, Velardi T. Effect of the herbicide diquat on the growth of microalgae and cyanobacteria [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1992, 49: 750–756.
- [22] 殷春涛, 胡鸿钧, 李夜光, 等. 中温螺旋藻新品系的选育研究 [J]. 武汉植物学研究, 1997, 15(3): 250–254.
YIN Chun-tao, HU Hong-jun, LI Ye-guang, et al. Studies on middle temperature strains selection of *Spirulina platensis*[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1997, 15(3): 250–254.
- [23] 崔海瑞, 汪志平, 徐步进. 甲基磺酸乙酯对钝顶螺旋藻生长和形态的影响[J]. 浙江农业大学学报, 1997, 23(6): 645–648.
CUI Hai-rui, WANG Zhi-ping, XU Bu-jin. The effects of ethyl methanesulphonate on the growth and morphology of *Spirulina platensis*[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural University*, 1997, 23(6): 645–648.
- [24] Wang Z P, Zhao Y. Morphological reversion of *Spirulina (Arthospira) platensis* (cyanophyta): From linear to helical[J]. *Journal of Phycology*, 2005, 41: 622–628.
- [25] 陈必链, 王明兹, 庄惠如, 等. 半导体激光对钝顶螺旋藻形态和生长的影响[J]. 光子学报, 2000, 29(5): 411–414.
CHEN Bi-lian, WANG Ming-zi, ZHUANG Hui-ru, et al. Effects of LD laser on the growth and morphology of *Spirulina platensis*[J]. *Acta Phototonica Sinica*, 2000, 29(5): 411–414.