

3,5-二氯苯酚对穗状狐尾藻的毒性影响

李肇丽, 赵汉卿 (沈阳化工研究院有限公司, 辽宁沈阳 110021)

摘要 [目的]评价3,5-二氯苯酚对沉水植物穗状狐尾藻的毒性。[方法]以穗状狐尾藻为试验对象,进行14 d生长抑制毒性试验。[结果]14 d茎长 E_rC_{50} 为2.84 mg/L,95%置信限为0.90~8.97 mg/L;14 d总茎长 E_yC_{50} 为2.08 mg/L,95%置信限为0.91~4.79 mg/L;14 d鲜重 E_rC_{50} 为2.83 mg/L,95%置信限为1.68~4.77 mg/L;14 d鲜重 E_yC_{50} 为1.55 mg/L,95%置信限为1.09~2.21 mg/L;14 d干重 E_rC_{50} 为2.76 mg/L,95%置信限为1.83~4.18 mg/L;14 d干重 E_yC_{50} 为1.63 mg/L,95%置信限为1.25~2.13 mg/L。[结论]3,5-二氯苯酚对沉水植物穗状狐尾藻具有一定毒性作用,可以作为穗状狐尾藻毒性试验的参比物。

关键词 3,5-二氯苯酚;穗状狐尾藻;毒性

中图分类号 S181 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)05-0085-02

The Toxic Effect of 3,5-dichloropheno on *Myriophyllum spicatum*

LI Zhao-li, ZHAO Han-qing (Shenyang Research Institute of Chemical Industry Co., Ltd., Shenyang, Liaoning 110021)

Abstract [Objective] To evaluate the toxicity of 3,5-dichloropheno on a submerged plant *Myriophyllum spicatum*. [Method] A 14 days of growth inhibition toxicity test was conducted on *Myriophyllum spicatum* as the test species. [Result] The 14 days E_rC_{50} of total shoot length was 2.84 mg/L, and the 95% confidence interval was 0.90-8.97 mg/L. The 14 days E_yC_{50} of total shoot length was 2.08 mg/L, and the 95% confidence interval was 0.91-4.79 mg/L. The 14 days E_rC_{50} of fresh weight was 2.83 mg/L, and the 95% confidence interval was 1.68-4.77 mg/L. The 14 days E_yC_{50} of fresh wight was 1.55 mg/L, and the 95% confidence interval was 1.09-2.21 mg/L. The 14 days E_rC_{50} of dry weight was 2.76 mg/L, and the 95% confidence interval was 1.83-4.18 mg/L. The 14 days E_yC_{50} of fresh wight was 1.63 mg/L, and the 95% confidence interval was 1.25-2.13 mg/L. [Conclusion] 3,5-dichloropheno was considered to have toxic effect on the submerged plant, *Myriophyllum spicatum*, which is suitable to be a reference substance of *Myriophyllum spicatum* toxicity test.

Key words 3,5-dichloropheno; *Myriophyllum spicatum*; Toxicity

地球上所有生命都直接或间接地依赖于初级生产者,而水生植物是水生生态系统中的初级生产者之一,进行光能转换和二氧化碳的吸收,产生氧气,存储营养物质,固定底泥和提供食物,同时为水生动物提供栖息环境,因此水生植物在食物链中发挥着重要作用。这些水生植物一旦受到化学品的有害影响,将对水生生态系统的结构和功能造成巨大破坏^[1]。近年来,随着水生植物的重要作用逐渐得到认可,利用水生植物进行实验室毒性试验及野外环境监测和评价日益受到国内外研究者的重视^[2]。

穗状狐尾藻(*Myriophyllum spicatum*)又名泥茜,是双子叶植物纲小二仙草科中的狐尾藻属。水生草本均为沉水植物^[3],大多数生于池沼或静水中。分布于我国黑龙江及内蒙古等省区,印度、朝鲜、日本、俄罗斯及其他一些欧洲国家、非洲(北部)、西亚、北美洲也有分布。可作为观赏植物,全草为草鱼和猪的饲料。目前在湖泊生态修复工程中作为净水工具种植和植被恢复先锋物种而被广泛应用。目前运用穗状狐尾藻进行农药或化学品毒性研究鲜见报道,而3,5-二氯苯酚常被用作毒性试验的参比物,且已作为参比物评价绿藻敏感度,因此笔者研究3,5-二氯苯酚对穗状狐尾藻的毒性影响。

1 材料与与方法

1.1 仪器和试剂 3,5-二氯苯酚(99.8%, Alfa Aesar, 批号5009A30W); $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (分析纯, 国药集团); $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (分析纯, 国药集团); $NaHCO_3$ (分析纯, 国药集团); $KHCO_3$ (分析纯, 国药集团); NH_4Cl (分析纯, 国药集团); $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ (分析纯, 国药集团); 蒸馏水。

电子天平(Mettler Toledo XS205DU, 精度0.000 01); 磁

力搅拌器(90-1B 上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司); 电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9123A型); 光源(SEZTEKTM GROW LAMP HPS 400W); 照度计(Konica Minolta T-10M); pH测定仪(HACH HQ40d PH电极); 溶解氧测定仪(HACH HQ40d DO电极); 电导率仪(Mettler Toledo SevenEasy型)。

1.2 试验体系 穗状狐尾藻引自中国科学院武汉水生所,取穗状狐尾藻顶芽6 cm,底部3 cm去掉侧枝插入泥中,以Smart培养基预培养7 d,选择生长状况一致的穗状狐尾藻用于试验。试验用水为Smart培养基,试验沉积物为人工土(OECD TG 239)。

1.3 试验设计^[4-7] 试验设3,5-二氯苯酚浓度1.0、1.8、3.2、5.6和10.0 mg/L,同时设空白对照试验(CK)。试验开始时(第0天),用Smart培养基配制浓度为100 mg/L的母液,依次吸取母液,稀释成相应浓度的试验液。CK直接取培养基进行试验。第7天换液时,试验液配制方法同上所述。暴露条件:试验周期14 d;初始藻预培养7 d;pH 6~9;环境温度18~22℃;光:暗=16 h:8 h;光照强度6 000~9 000 lx。

在试验第0天,从预培养备选穗状狐尾藻中选取5盆进行测量。其中植物平均总茎长为6.2 cm,鲜重平均总重量为0.101 5 g,干重平均总重量为0.008 8 g(表1)。

分装空白对照组6个平行及各浓度试验组4个平行,每个平行3株藻,每个平行沉积物和水的体积比为0.4:1.6。

1.4 测定项目与方法 在试验第0、4、7、14天观察各3,5-二氯苯酚浓度组穗状狐尾藻生长状况。在试验第14天,记录每盆每株穗状狐尾藻,包括植物主茎长、侧枝长、植物总茎长、侧枝数量、植物鲜重和植物干重。

1.5 数据分析^[8] 平均生长率抑制百分率(I_r),按下式计算:

$$I_r = \frac{\mu c - \mu t}{\mu c} \times 100\%$$

作者简介 李肇丽(1983—),女,满族,辽宁丹东人,工程师,硕士,从事环境毒理学研究。

收稿日期 2017-11-29

表1 试验开始时穗状狐尾藻生长情况

Table 1 *M. spicatum* growth at the beginning of the test

序号 No.	总茎长 Total stem length cm	鲜重 Fresh weight g	干重 Dry weight g
1	5.1	0.081 1	0.006 9
2	7.5	0.119 8	0.011 4
3	7.4	0.141 4	0.011 2
4	5.8	0.108 7	0.008 8
5	5.1	0.056 5	0.005 6
平均值 Average	6.2	0.101 5	0.008 8

式中, I_r 为植物生长速率抑制百分率(%); μ_c 为空白对照组植物生长速率平均值; μ_t 为处理组植物生长速率平均值。

生长速率是指植物总长、鲜重和干重的对数随时间的变化。按下式计算:

$$\mu_{i-j} = \frac{\ln N_j - \ln N_i}{t}$$

式中, μ_{i-j} 为从试验开始时间*i*到结束时间*j*的平均生长速率; N_i 为在时间*i*时处理组或对照组的测量变量; N_j 为在时间*j*时处理组或对照组的测量变量;*t*为从*i*到*j*的时间。

平均生物量抑制百分率(I_y),按下式计算:

$$I_y = \frac{bc - bt}{bc} \times 100\%$$

式中, I_y 为平均生物抑制百分率(%);*bc*为对照组生物量,即对照组最终生物量与初始生物量之差;*bt*为处理组生物量,即处理组最终生物量与初始生物量之差。

$E_r C_{50}$ 、 $E_y C_{50}$ 的计算:采用概率单位法计算穗状狐尾藻14 d总茎长、鲜重和干重 $E_r C_{50}$ 、 $E_y C_{50}$ 及其95%置信限。

2 结果与分析

2.1 穗状狐尾藻的生长抑制情况 在试验第0天,CK和各浓度试验组穗状狐尾藻生长状况良好。在试验第4天,CK的生长状况良好,1.0、1.8和3.2 mg/L 3,5-二氯苯酚处理的植物生长状况良好,与CK相似;5.6和10.0 mg/L 3,5-二氯苯酚处理的植物生长状况一般。在试验第7天,CK的生长状况良好,1.0 mg/L的穗状狐尾藻的生长状况良好,与CK相似;1.8 mg/L 3,5-二氯苯酚处理的植物生长状况良好;3.2 mg/L 3,5-二氯苯酚处理生长情况一般;5.6和10.0 mg/L 3,5-二氯苯酚处理均出现变色和茎叶片断化症状。在试验第14天,CK的生长状况良好,1.0 mg/L处理的植物生长状况良好,与CK相似;1.8 mg/L处理的穗状狐尾藻生长状况良好;3.2 mg/L处理的生长情况一般;5.6和10.0 mg/L处理的穗状狐尾藻均出现变色和坏死症状。

2.2 3,5-二氯苯酚对穗状狐尾藻的毒性 从图1、2可以看出,随着3,5-二氯苯酚浓度的升高,穗状狐尾藻的14 d茎长生长速率(I_r)与茎生长量抑制百分率(I_y)逐渐增大。3,5-二氯苯酚最低浓度14 d的 I_r 为10.98%, I_y 为21.38%;3,5-二氯苯酚最高浓度14 d的 I_r 为100%, I_y 为100%。经计算,14 d茎长 $E_r C_{50}$ 为2.84 mg/L,95%置信限为0.90~8.97 mg/L;14 d茎长 $E_y C_{50}$ 为2.08 mg/L,95%置信限为0.91~4.79 mg/L。

由图3、4可以看出,随着3,5-二氯苯酚浓度的升高,14 d鲜重生长速率抑制百分率(I_r)和鲜重生长量抑制百分率

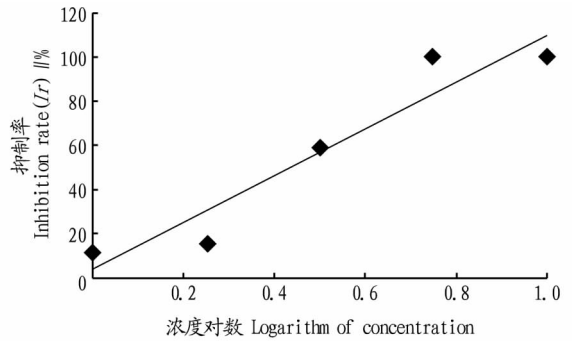


图1 14 d穗状狐尾藻茎长生长速率抑制百分率

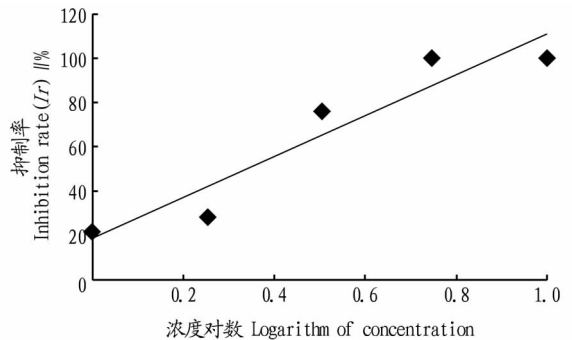
Fig. 1 The percentage inhibition percentage of the growth rate of stem growth in 14 days of *M. spicatum*

图2 14 d穗状狐尾藻茎生长量抑制百分率

Fig. 2 The percentage inhibition percentage of stem growth in 14 days of *M. spicatum*

(I_y)明显逐渐增大。3,5-二氯苯酚最低浓度14 d的 I_r 为11.3%, I_y 为30.0%;3,5-二氯苯酚最高浓度14 d的 I_r 为100%, I_y 为100%。经计算,14 d鲜重 $E_r C_{50}$ 为2.83 mg/L,95%置信限为1.68~4.77 mg/L;14 d鲜重 $E_y C_{50}$ 为1.55 mg/L,95%置信限为1.09~2.21 mg/L。

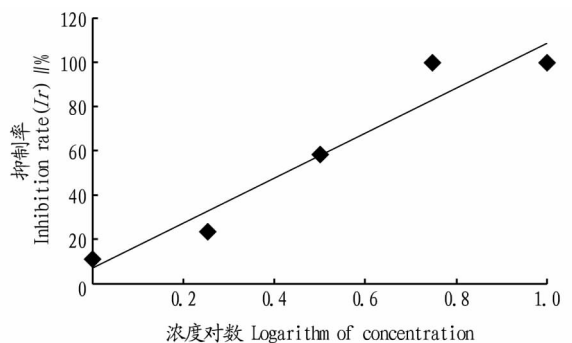


图3 14 d穗状狐尾藻的鲜重生长速率抑制百分率

Fig. 3 The inhibition percentage of fresh weight growth rate of plant in 14 days of *M. spicatum*

由图5、6可见,随着3,5-二氯苯酚浓度的升高,穗状狐尾藻的14 d干重生长量抑制百分率(I_r)和生长量抑制百分率(I_y)明显逐渐增大。3,5-二氯苯酚最低浓度14 d的 I_r 为10.6%, I_y 为26.4%;3,5-二氯苯酚最高浓度14 d的 I_r 为100%, I_y 为100%。经计算,14 d干重 $E_r C_{50}$ 为2.76 mg/L,95%置信限为1.83~4.18 mg/L;14 d干重 $E_y C_{50}$ 为1.63 mg/L,95%置信限为1.25~2.13 mg/L。

(下转第95页)

134-142.

- [2] LYNCH M P, WOOD L. Effects of environmental salinity on free amino acids of *Crassostrea virginica* (Gmelin) [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1966, 19(4):783-790.
- [3] MENG J, ZHU Q H, ZHANG L L, et al. Genome and transcriptome analyses provide insight into the euryhaline adaptation mechanism of *Crassostrea gigas* [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3):1-13.
- [4] 张丽英. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2008:49-63.
- [5] FAO/WHO. Energy and protein requirements[C]//FAO nutrition meeting report series. Roma; FAO, 1973.
- [6] 张善发, 邓岳文, 王庆恒, 等. 几种饵料对华贵栉孔扇贝浮游幼虫生长和成活率的影响[J]. *水产科学*, 2008, 27(4):184-86.
- [7] 杨凤影, 张弼. 不同地理种群栉孔扇贝营养成分的比较分析[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(9):4073-4075.
- [8] 王颖, 吴志宏, 李红艳, 等. 不同地理群体魁蚶的营养成分比较分析[J]. *食品科学*, 2013, 34(3):248-252.
- [9] 张国安, 李太武, 苏秀榕, 等. 不同地理种群文蛤的营养成分研究[J]. *水产科学*, 2006, 25(2):79-81.
- [10] 杜美荣, 方建光, 葛长宇, 等. 盐度和饵料密度对栉孔扇贝稚贝滤水率的影响[J]. *渔业科学进展*, 2009, 30(3):74-78.
- [11] FOKINA N N, NEFEDOVA Z A, NEMOVA N N, et al. Modulating role of lipids and their fatty acids in adaptation of the White Sea mussels *Mytilus edulis* L. to environmental salinity change[J]. *Journal of evolutionary biochemistry and physiology*, 2007, 43(4):379-387.
- [12] 沈永龙. 盐度对瘤背石磺体组成、消化生理及渗透压调节的影响[D].

南京:南京农业大学, 2014.

- [13] BELTRAN-LUGO A I, MAEDA-MARTINEZ A N, PACHECO-AGUILAR R N, et al. Seasonal variations in chemical, physical, textural and microstructure properties of adductor muscles of *Pacific lions-paw scallop* (*Nodipecten subnodosus*) [J]. *Aquaculture*, 2006, 258(1/2/3/4):619-632.
- [14] SOKOLOWSKI A, WOLOWICZ M, HUMMEL H. Free amino acids in the clam *Macoma balthica* L. (Bivalvia, part A; Mollusca) from brackish waters of the southern Baltic Sea [J]. *Comparative biochemistry and physiology part A: Molecular & integrative physiology*, 2003, 134(3):579-592.
- [15] MAI K, MERCER J P, DONLON J. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* L. and *Haliotis discus hannai* Ino. V. The role of polyunsaturated fatty acids of microalgae in abalone nutrition [J]. *Aquaculture*, 1996, 139:77-89.
- [16] 杨红生. 贝类营养与养殖模式的研究现状与展望[C]//2002年世界水产养殖大会论文交流综述. 北京:海洋出版社, 2002:193-202.
- [17] SIEBERS D, LUCU C, SPERLING K R, et al. Kinetics of osmoregulation in the crab *Carcinus maenas* [J]. *Marine biology*, 1972, 17(4):291-303.
- [18] GILLES R. Effects of osmotic stresses on the proteins concentration and pattern of *Eriocheir sinensis* blood [J]. *Comparative biochemistry and physiology part A: Physiology*, 1977, 56(2):109-114.
- [19] HOSOI M, KUBOTA S, TOYOHARA M, et al. Effect of salinity change on free amino acid content in *Pacific oyster* [J]. *Fisheries science*, 2003, 69(2):395-400.
- [20] SOMERO G N, BOWLUS R D. Osmolyte and metabolic end products of molluscs: The design of compatible solute systems[M]//HOCHACHKA P W. *Mollusca*; Vol. 2. New York: Academic Press, 1983:77-100.

(上接第 86 页)

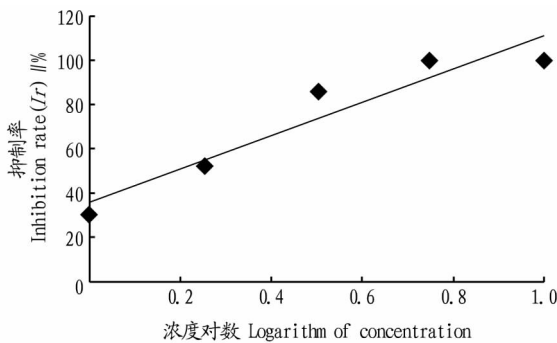


图 4 14 d 穗状狐尾藻的鲜重生长量抑制百分率

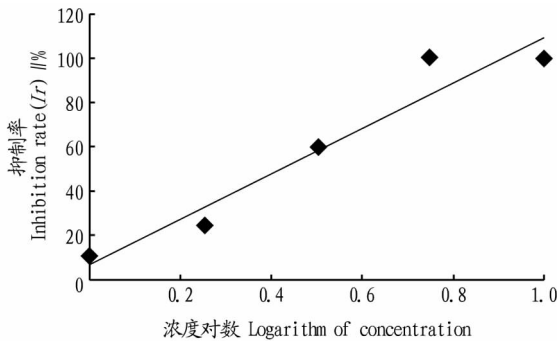
Fig. 4 The percentage inhibition percentage of fresh plant fresh-ness in 14 days of *M. spicatum*

图 5 14 d 穗状狐尾藻的干重生长速率抑制百分率

Fig. 5 The percentage inhibition percentage of plant dry weight growth rate in 14 days of *M. spicatum*

3 结论

该研究表明, 3,5-二氯苯酚对沉水植物穗状狐尾藻具有一定毒性作用, 其 14 d $E_r C_{50}$ 和 $E_y C_{50}$ 均在中毒范围内。因此, 3,5-二氯苯酚可以作为参比物用于评价穗状狐尾藻毒性的影响。

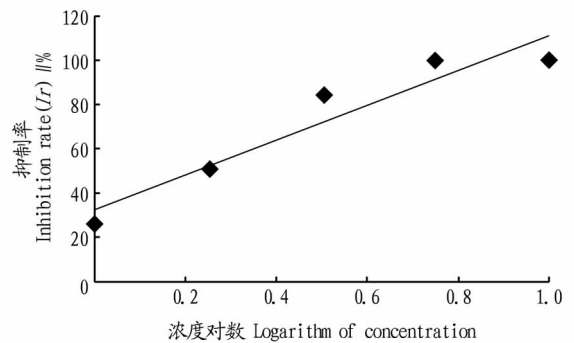


图 6 14 d 穗状狐尾藻的干重生长量抑制百分率

Fig. 6 The percentage inhibition percentage of plant dry rebirth in 14 days of *M. spicatum*

参考文献

- [1] 于彩虹, 黄莹, 胡琳娜, 等. 农药对水生植物风险评估研究进展[J]. *安全与环境学报*, 2013, 13(4):1-5.
- [2] 严雪, 沈国兴, 严国安, 等. 水生植物毒性试验及在生态风险评估中的作用[J]. *上海环境科学*, 1998, 17(7):24-26, 39.
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 穗状狐尾藻[M]//中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 53 卷第 2 分册. 北京: 科学出版社, 2000.
- [4] OECD. Test No. 239: Water-sediment *Myriophyllum spicatum* toxicity test [M]//OECD guidelines for the testing of chemicals; Section 2. Paris: OECD Publishing, 2014.
- [5] OECD. Test No. 238: Sediment-free *Myriophyllum spicatum* toxicity test [M]//OECD guidelines for the testing of chemicals; Section 2. Paris: OECD Publishing, 2014.
- [6] OECD. Test No. 219: Sediment-water chironomid toxicity using spiked water [M]//OECD guidelines for the testing of chemicals; Section 2. Paris: OECD Publishing, 2004.
- [7] RATTE M, RATTE H. *Myriophyllum* toxicity test: Result of a ring test using *M. aquaticum* and *M. spicatum* grown in a water-sediment system [M]//OECD environment, health and safety publications (EHS), series on testing and assessment. Paris: OECD Publishing, 2014:206.
- [8] OECD. Current approaches in the statistical analysis of ecotoxicity data: A guidance to application [M]//OECD environment, health and safety publications (EHS), series on testing and assessment. Paris: OECD Publishing, 2006:54.