

3,5-二氯苯酚对浮萍的生长抑制效应

姚洪伟^{1,2}, 舒耀皋^{1,2*}, 汪丹^{1,2}

(1. 上海化工研究院有限公司, 上海 200062; 2. 上海化学品公共安全工程技术研究中心, 上海 200062)

摘要 以浮萍为对象, 研究 3,5-二氯苯酚对浮萍叶片数、鲜重和干重的生长抑制效应。结果表明, 以浮萍植物体数为指标, 浮萍 7 d 生长率受抑制达到 50% 时的 3,5-二氯苯酚浓度 (7 d- $E_r C_{50}$) 为 2.910 mg/L, 95% 置信区间为 2.428~5.650 mg/L。随着 3,5-二氯苯酚浓度的增大, 对浮萍叶片数、鲜重、干重的生长抑制效应增强, 且呈现出明显的剂量-效应关系, 3,5-二氯苯酚对浮萍不同测试指标的毒性从大到小依次为鲜重、干重、叶片数。

关键词 3,5-二氯苯酚; 浮萍; 叶片数; 鲜重; 干重; 抑制效应

中图分类号 X173 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)23-0113-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.23.027



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Growth Inhibition Effects of 3,5-Dichlorophenol to *Lemna minor*

YAO Hong-wei^{1,2}, SHU Yao-gao^{1,2}, WANG Dan^{1,2} (1. Shanghai Chemical Research Institute Co., Ltd., Shanghai 200062; 2. Shanghai Engineering Research Center of Chemicals Public Safety, Shanghai 200062)

Abstract Taking *L. minor* as the object, the growth inhibition effect of 3,5-dichlorophenol on the number of leaves, fresh weight and dry weight of *L. minor* was studied. The results showed that the concentration of 3,5-dichlorophenol when 7-day growth rate was inhibited by 50% (7 d- $E_r C_{50}$) was 2.910 mg/L, and the 95% confidence interval was 2.428-5.650 mg/L. With the concentration increased of 3,5-dichlorophenol, the growth inhibitory effects to the number of leaves, fresh weight and dry weight were enhanced, and showed significant dose-effect relationship, the toxicity of 3,5-dichlorophenol to different test indexes of *L. minor* was in order of fresh weight, dry weight and number of leaves.

Key words 3,5-dichlorophenol; *Lemna minor*; Number of leaves; Fresh weight; Dry weight; Inhibition effect

3,5-二氯苯酚是一种重要的有机化工中间体, 被广泛地应用于生产农药除草剂、医药、助剂产品等, 具有较强的挥发性和刺激性, 对生物体有广谱毒性及诱突变性, 现已被许多国家列为环境优先监测的有机污染物之一^[1-2]。

浮萍 (*Lemna minor*) 为漂浮水生维管束植物, 在我国分布极为广泛, 具有易于培养、繁殖快、总产量高等优点^[3]。目前, 国内外许多学者已就浮萍的应用进行了深入研究, 浮萍的生长、保存、试验方法、阳性对照等试验相关技术均见报道^[4-6]。由于浮萍的生态系统测试结果重现性好, 在国外被广泛地应用于水生生态毒理学研究^[7], 但国内的相关报道较少^[8]。

该研究通过浮萍毒性试验, 考察不同浓度下 3,5-二氯苯酚对浮萍生长的影响, 探讨 3,5-二氯苯酚对其叶片数、鲜重和干重的毒性效应, 以期以浮萍作为 3,5-二氯苯酚化合物的毒性评价和生态风险监测生物标志物可行性提供试验方法参考和数据支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验生物。浮萍使用改进的瑞士标准(SIS)培养基培养, 每周更新一次培养基。试验开始前, 选择足量的克隆转入新鲜无菌培养基中, 并在试验条件下培养 7~10 d。

试验有效性要求为空白对照组浮萍叶片数的倍增期+需

在 2.5 d(60 h) 及 7 d 内的平均特定生长率大于 0.275 d⁻¹。

1.1.2 试验仪器与耗材。电子天平(ALB-224 型); 智能型人工气候箱(RXZ-1500B 型); 立式压力灭菌器(LDZX-50KBS 型); 电热恒温鼓风干燥箱(DGG-9070A 型); 高速冷冻离心机(H2050R 型); 生物显微镜(CX21 型); pH 计(PB-10 型); 照度计(540 型); 可容纳 500 mL 试验液的全玻璃器皿。

1.1.3 试剂。3,5-二氯苯酚(纯度>99.97%)购自西格玛奥德里奇中国; 其他化学试剂(NaNO₃、KH₂PO₄、MgSO₄·7H₂O、CaCl₂·2H₂O、Na₂CO₃、H₃BO₃、MnCl₂·4H₂O、Na₂MoO₄·2H₂O、ZnSO₄·7H₂O、CuSO₄·5H₂O、Co(NO₃)₂·6H₂O、FeCl₃·6H₂O、Na₂-EDTA·2H₂O)为市购分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基配制。参照 OECD^[9] 标准配制 SIS 培养基, 除 Fe-EDTA 贮备液经过 0.22 μm 硝酸纤维素滤膜灭菌外, 其余贮备液经高压灭菌(120 °C, 15 min), 4 °C 黑暗保存, 备用。6 种储备液按比例混合, 调节 pH 至 6.5±0.2 后无菌过滤使用。

1.2.2 试验条件。试验用器皿均经过 121 °C 高压灭菌 30 min, 试验温度为 (25±2) °C, 光照强度为 6 500~10 000 lx, 光照周期为 24 h 连续光照^[10]。

1.2.3 浮萍生长抑制试验。称取 3,5-二氯苯酚 0.025 4 g, 用灭菌培养基配成 100 mg/L 溶液, 用培养液稀释为 1.0、1.5、2.0、2.5 和 3.0 mg/L 共 5 个浓度组, 以空白(不加 3,5-二氯苯酚)为对照, 每个培养皿中放入 12 片浮萍(4 株 3 叶浮萍), 每浓度设置 3 个平行样。

每个结晶皿中的试验溶液为 300 mL, 试验采用静态试验

基金项目 上海化工研究院科研计划项目(N307-2016jczx-01)。
作者简介 姚洪伟(1987—), 女, 山东菏泽人, 工程师, 硕士, 从事环境安全评价研究。* 通信作者, 高级工程师, 硕士, 从事环境安全评价。
收稿日期 2020-04-07

方式进行,在试验开始后的0、3、5和7 d分别记录浮萍的生长情况(包括浮萍叶片数、鲜重、干重),并在试验开始和结束时测定3,5-二氯苯酚浓度。

1.2.4 浮萍生长指标的计算。平均特定增长率(μ):

$$\mu_{i-j} = \frac{\ln(N_j) - \ln(N_i)}{t} \quad (1)$$

式中, μ_{i-j} 为从*i*时点到*j*时点的平均特定增长率(d^{-1}); N_i 为*i*时点的生物量; N_j 为*j*时点的生物量; t 为从*i*到*j*的时间间隔。

平均特定增长率抑制率(I_r):

$$I_r = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c} \times 100\% \quad (2)$$

式中, μ_c 为对照组的平均值; μ_i 为浓度组的平均值。

产量为叶片数及其他变量(总叶面积、干重或鲜重)在试验结束时与试验开始时的差值。对于干重或鲜重而言,起始生物量通过测定与试验接种相同批次的浮萍来实现。各组的产量抑制百分率(I_y)计算如下:

$$I_y = \frac{b_c - b_T}{b_c} \times 100\% \quad (3)$$

式中, b_c 为对照组试验结束时生物量与初始生物量之差; b_T 为浓度组试验结束时生物量与初始生物量之差。

2 结果与分析

2.1 3,5-二氯苯酚对浮萍生长的影响 由图1可知,随着3,5-二氯苯酚浓度的升高,浮萍生长的抑制作用增大,二者呈现明显的剂量-效应关系。随染毒时间延长,各组浮萍的抑制作用逐渐增加。

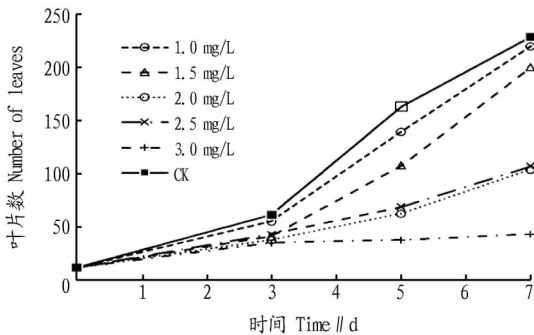


图1 3,5-二氯苯酚对浮萍生长的影响

Fig. 1 The effect of 3,5-dichlorophenol on the growth of *Lemna minor*

2.2 3,5-二氯苯酚对浮萍生长量的影响 从表1可以看出,3,5-二氯苯酚对浮萍的叶片数具有明显的抑制作用,而且这种抑制作用随着浓度和时间的增大而增大。根据3,5-二氯苯酚对浮萍生长抑制的毒性数据,基于叶片数的生长抑制率,通过概率单位法求得:浮萍3 d生长率受抑制达到50%的浓度(3 d- $E_r C_{50}$)为5.218 mg/L;浮萍5 d生长率受抑制达到50%的浓度(5 d- $E_r C_{50}$)为2.873 mg/L,95%置信区间为2.340~4.845 mg/L;浮萍7 d生长率受抑制达到10%的浓度(7 d- $E_r C_{10}$)为1.732 mg/L,95%置信区间为0.746~2.102 mg/L;7 d- $E_r C_{20}$ 为2.070 mg/L,95%置信区间为

1.326~2.490 mg/L;7 d- $E_r C_{50}$ 为2.910 mg/L,95%置信区间为2.428~5.650 mg/L。

表1 3,5-二氯苯酚对浮萍叶片数的影响

浓度 Concentration mg/L	I_r			I_y		
	3 d	5 d	7 d	3 d	5 d	7 d
1.0	6.72	5.88	0.00	12.88	15.53	4.15
1.5	24.54	15.76	3.86	41.05	36.50	13.24
2.0	30.11	36.53	26.51	48.29	66.36	57.54
2.5	22.08	33.02	24.82	37.63	62.38	56.16
3.0	34.13	56.06	56.39	53.12	82.95	85.69

2.3 3,5-二氯苯酚对浮萍干重和鲜重的影响 由表2可知,经不同浓度的3,5-二氯苯酚处理7 d后,3,5-二氯苯酚对浮萍的鲜重和干重的影响呈良好的浓度(剂量)-效应关系。随着处理浓度的增大,浮萍鲜重和干重与对照相比较明显减少。

表2 3,5-二氯苯酚对浮萍干重、鲜重的影响

浓度 Concentration mg/L	I_r		I_y	
	干重 Dry weight	鲜重 Fresh weight	干重 Dry weight	鲜重 Fresh weight
1.0	15.35	16.47	20.03	10.42
1.5	21.20	25.23	40.60	33.07
2.0	38.53	56.45	74.49	80.36
2.5	36.16	60.65	73.66	84.80
3.0	62.33	107.62	94.10	101.14

根据试验测定结果,计算各浓度组及对照组的平均特定增长率、产量和抑制率后,通过概率单位法计算3,5-二氯苯酚的 $E_r C_{10}$ 、 $E_r C_{20}$ 、 $E_r C_{50}$ 值及95%的置信区间如下:①基于鲜重的生长抑制率:浮萍7 d生长率受抑制达到10%的浓度(7 d- $E_r C_{10}$)为0.867 mg/L,95%置信区间为0~1.296 mg/L;浮萍7 d生长率受抑制达到20%的浓度(7 d- $E_r C_{20}$)为1.160 mg/L,95%置信区间为0.008~1.582 mg/L;浮萍7 d生长率受抑制达到50%的浓度(7 d- $E_r C_{50}$)为2.021 mg/L,95%置信区间为1.425~17.159 mg/L;②基于干重的生长抑制率:7 d- $E_r C_{10}$ 值为0.884 mg/L,95%置信区间为0.070~1.328 mg/L;7 d- $E_r C_{20}$ 值为1.303 mg/L,95%置信区间为0.323~1.742 mg/L;7 d- $E_r C_{50}$ 值为2.731 mg/L,95%置信区间为2.070~8.506 mg/L。

2.4 3,5-二氯苯酚对浮萍抑制率的影响 从图2和图3可以看出,3,5-二氯苯酚对浮萍的生长具有明显的抑制作用,对浮萍不同测试指标的毒性从大到小依次为鲜重、干重、叶片数。

3 结论

该研究以浮萍为处理对象,研究3,5-二氯苯酚对浮萍

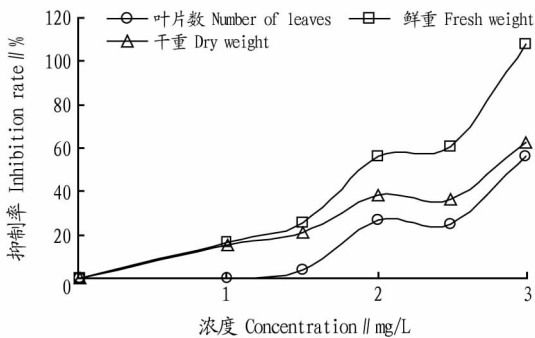


图2 3,5-二氯苯酚浓度-生长抑制关系曲线

Fig. 2 3,5-Dichlorophenol concentration-growth inhibition relationship curve

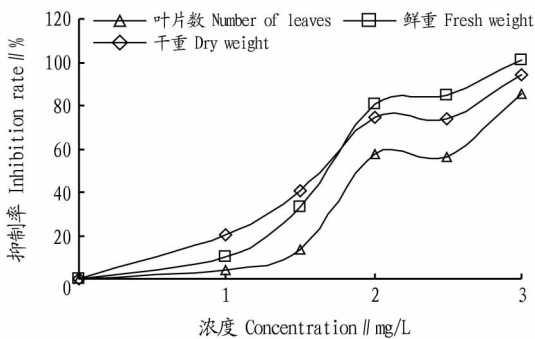


图3 3,5-二氯苯酚浓度-产量抑制关系曲线

Fig. 3 3,5-Dichlorophenol concentration-yield inhibition relationship curve

(上接第 112 页)

持“谁受益、谁补偿;谁污染、谁付费”原则,实施下游对上游水资源、水环境保护的补偿和上游对下游超标排污或环境责任事故赔偿的双向责任,建立上下游成本共担、效益共享、合作共治的流域生态补偿长效机制。完善生态公益林、湿地、海洋、水土保持、耕地及土壤生态补偿机制。

(5) 建立排海总量控制制度。建立实施重点入海排污总量控制制度,是减少入海污染物排放总量、有效改善海洋环境质量的最强有力的措施,对保护和改善海洋环境、促进和保障沿海地区社会经济发展、促进沿海地区海洋产业结构和发展方式的转变具有重大意义^[12]。科学系统开展湾区陆海污染调查和总量核算,按照近岸海域水质考核指标确定排海污染物总量控制指标,根据海洋环境质量改善目标和管理要求确定湾区陆海减排控制要求,并进一步将排放总量分配至各乡镇,确保沿海各镇(街道)的入海污染排放量不超过海域可用环境容量。

5 结语

沿海城市在城市规划管理过程中需要更加注重陆海统筹思维,推动环湾各县市、流域上下游各县市的生态环境协同保护与联动治理。该研究以福建省环三都澳湾区为案例,按照陆海统筹总体要求,探索通过“双评价”更好地识别陆海生态保护极重要区,划定生态保护红线并严格实施,依此加快推动流域上下游各县市和环湾县市联动,共治环境污染、

生长曲线的影响,并考察 3,5-二氯苯酚对其叶片数、鲜重和干重的毒性效应,结果表明,随着浓度的增高,3,5-二氯苯酚对浮萍的生长具有明显的抑制作用,而且浓度越高抑制作用越强;不同浓度的 3,5-二氯苯酚处理组,浮萍体干重和鲜重都有不同程度的减少,而且处理浓度越高越少;3,5-二氯苯酚对浮萍不同测试指标的毒性从大到小依次为鲜重、干重、叶片数。

参考文献

- [1] XIE T M, ABRAHAMSSON K, FOGELQVIST E, et al. Distribution of chlorophenols in a marine environment[J]. Environmental science & technology, 1986, 20(5): 457-463.
- [2] 黎卫亮. 2,4-二氯苯酚在黄土性土壤中的吸附及迁移转化研究[D]. 西安:长安大学, 2009.
- [3] 郑丽英. 双草醚和 Cu 对浮萍的毒性效应[J]. 广州化工, 2012, 40(9): 54-55, 91.
- [4] 宋志慧, 黄国兰. 浮萍在水生态毒理学中的应用[J]. 环境科学与技术, 2005, 28(1): 94-96, 99.
- [5] 朱晔荣, 马荣, 刘清岱, 等. 浮萍相关研究的几方面重要进展[J]. 生物学通报, 2010, 45(4): 4-6.
- [6] 吴建勋, 张姗姗. Cr, Co, Pb 单一胁迫对浮萍 SOD, POD, MDA 的影响[J]. 中国农学通报, 2013, 29(15): 188-194.
- [7] BURKIEWICZ K, SYNAK R, TUKAJ Z. Toxicity study of three insecticides in a standard algal growth inhibition test with *Scenedesmus subspicatus*[J]. Environmental contamination and toxicology, 2005, 74: 1192-1198.
- [8] 金小伟, 查金苗, 王子健, 等. 氯酚类化合物对紫背浮萍生长及叶绿素含量的影响[J]. 中国环境科学, 2013, 33(12): 2257-2261.
- [9] OECD. Guidelines for the testing of chemical, 221 *Lemna sp.* growth inhibition test[S]. Paris: OECD, 2006.
- [10] 环保部化学品登记中心, 《化学品测试方法》编委会. 化学品测试方法-生物系统效应卷(2)[M]. 2版. 北京: 中国环境科学出版社, 2013.

共推生态修复、共建联动平台, 积极探索跨县市(区)联防联控治理模式创新等, 以保护为前提推动陆海统筹和高质量发展, 为生态环境的跨县市(区)治理水平提升提供相关决策参考。

参考文献

- [1] 李孝娟, 傅文辰, 繆迪优, 等. 陆海统筹指导下的深圳海岸带规划探索[J]. 规划师, 2019, 35(7): 18-24.
- [2] 宁德市环保局, 海洋渔业局课题组. “开发三都澳, 建设新宁德”的生态环境研究[R]. 2017.
- [3] 包晓斌. 京津冀区域生态环境协同治理路径[J]. 中国发展观察, 2019(16): 49-50.
- [4] 台州市人民政府办公室. 台州市人民政府办公室关于印发台州市生态文明建设规划(2018-2025年)的通知[J]. 台州市人民政府公报, 2019(11): 16-47.
- [5] 孟祥亮, 刘伟, 孔梅, 等. 《生态环境状况评价技术规范》修订的生态管理效用评估: 以山东省为例[J]. 环境监控与预警, 2020, 12(2): 56-62.
- [6] 黄晓凌, 姜宏汝, 黄一帆. 福建省矿山环境保护治理研究[J]. 资源与产业, 2009, 11(3): 95-99.
- [7] 陈忠禹. 海域生态补偿法律机制: 福建省建设海洋生态文明先行示范区的制度保障[J]. 晋中学院学报, 2015, 32(6): 59-62.
- [8] 乔花云, 司林波, 彭建交, 等. 京津冀生态环境协同治理模式研究: 基于共生理论的视角[J]. 生态经济, 2017, 33(6): 151-156.
- [9] 王喆, 周凌一. 京津冀生态环境协同治理研究: 基于体制机制视角探讨[J]. 经济与管理研究, 2015, 36(7): 68-75.
- [10] 张雪珍. 西北地区黄河流域生态环境协同治理路径研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2018.
- [11] 席恺媛, 朱虹. 长三角区域生态一体化的实践探索与困境摆脱[J]. 改革, 2019(3): 87-96.
- [12] 赵骞, 杨永俊, 赵仕兰. 入海污染物总量控制制度与技术的研究进展[J]. 海洋开发与管理, 2013, 30(2): 65-71.