

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20191216002

刘全斌, 张明兴, 丁光辉, 等. 微塑料在日本虎斑猛水蚤(*Tigriopus japonicus*)体内的摄入、排出及其摄食行为的影响[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(4): 184-191

Liu Q B, Zhang M X, Ding G H, et al. Uptake and elimination of microplastics by *Tigriopus japonicus* and its impact on feeding behavior [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(4): 184-191 (in Chinese)

微塑料在日本虎斑猛水蚤 (*Tigriopus japonicus*) 体内的摄入、排出及其摄食行为的影响

刘全斌^{1,2}, 张明兴², 丁光辉¹, 李西山¹, 张典^{2,3}, 张微微², 王莹^{2,#}, 王菊英^{2,*}

1. 大连海事大学环境科学与工程学院, 大连 116026
2. 国家海洋环境监测中心, 海洋垃圾和微塑料研究中心, 大连 116023
3. 自然资源部第三海洋研究所海洋生物与生态实验室, 厦门 361000

收稿日期: 2019-12-16 录用日期: 2020-02-18

摘要: 微塑料的生态毒理学效应, 是近年来国际环境领域的研究热点和前沿问题。然而, 由于生物体内的微塑料定量分析存在难度, 导致其毒动力学过程和生物影响等方面的研究受限。本研究以 10 μm 荧光标记的聚苯乙烯(PS)为测试对象, 考察了日本虎斑猛水蚤(*Tigriopus japonicus*)对 PS 微粒的摄入及排出动力学, 以及 PS 微粒对其摄食行为的影响。结果表明, 日本虎斑猛水蚤暴露于表观浓度为 1×10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PS 微粒溶液, 其体内检出的 PS 微粒的量随着暴露时间增加呈现出逐渐增加的趋势, 暴露 24 h 后达到最大值, 为 (7.00 ± 2.44) 个 $\cdot \text{只}^{-1}$ ($n=3$), 48 h 后降至 (3.20 ± 1.93) 个 $\cdot \text{只}^{-1}$ ($n=3$)。将暴露于表观浓度为 1×10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PS 微粒溶液中 48 h 后的日本虎斑猛水蚤转移至清洁海水中后, 体内检出的 PS 微粒的量呈现下降趋势, 24 h 后可排出体内 $96.33\% \pm 1.18\%$ ($n=3$) 的 PS 微粒, 48 h 后生物体内无 PS 微粒检出。日本虎斑猛水蚤暴露于表观浓度为 1×10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PS 微粒溶液中 24 h 和 48 h 后, 其对微藻的摄食率与对照组相比无显著性差异 ($P > 0.05$)。研究结果为科学评估微塑料的生态风险提供依据。

关键词: 聚苯乙烯微粒; 日本虎斑猛水蚤; 摄入行为; 排出行为; 微藻摄食率

文章编号: 1673-5897(2020)4-184-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Uptake and Elimination of Microplastics by *Tigriopus japonicus* and Its Impact on Feeding Behavior

Liu Quanbin^{1,2}, Zhang Mingxing², Ding Guanghui¹, Li Xishan¹, Zhang Dian^{2,3}, Zhang Weiwei², Wang Ying^{2,#}, Wang Juying^{2,*}

1. College of Environmental Science and Engineering, Dalian Maritime University, Dalian 116026, China
2. Marine Debris and Microplastics Research Center, National Marine Environmental Monitoring Center, Dalian 116023, China
3. Laboratory of Marine Biology and Ecology, Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Xiamen 361000, China

Received 16 December 2019 accepted 18 February 2020

基金项目: 国家重点研发计划专项(2016YFC1402201); 中国工程院咨询研究项目(2019-XY-28); 国家自然科学基金资助项目(41706117)

第一作者: 刘全斌(1995—), 男, 硕士研究生, 研究方向为海洋生态毒理学, E-mail: lqb12121@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: jywang@nmemc.org.cn

共同通讯作者 (Co-corresponding author), E-mail: wangying@nmemc.org.cn

Abstract: Recently the ecotoxicological effects of microplastics, as one of the frontier research issues in international environmental fields, have been a cause for concern. However, uptake and elimination kinetics of microplastics by biota have rarely been investigated due to the difficulties in their quantitative analysis. In this study, the uptake and elimination of microplastics by *Tigriopus japonicus* were investigated by using 10 μm polystyrene microspheres. Meanwhile, the impacts of polystyrene microspheres on the feeding behavior of *T. japonicus* were also assessed. The results indicate that with the increase of the exposure time the amount of polystyrene microspheres detected in *T. japonicus* increased. The highest level of polystyrene microspheres detected in *T. japonicus* was (7.00 ± 2.44) particles \cdot individual $^{-1}$ ($n=3$) when exposed to polystyrene microspheres at the nominal concentration of 1×10^3 particles \cdot mL $^{-1}$ over 24 h. After 48 h, the amount of ingested polystyrene microspheres decreased to (3.20 ± 1.93) particles \cdot individual $^{-1}$ ($n=3$). After the exposure, *T. japonicus* were transferred to clean seawater. The amount of polystyrene microspheres in *T. japonicus* decreased dramatically with the increase of the exposure time. The polystyrene microspheres were eliminated quickly with a high clearance percentage of $96.33\% \pm 1.18\%$ ($n=3$) after depuration of 24 h, and we did not find polystyrene microspheres in *T. japonicus* after depuration of 48 h. Moreover, there were no significant differences for the microalgae ingestion rates in the presence of 1×10^3 particles \cdot mL $^{-1}$ polystyrene microspheres over 24 h and 48 h ($P>0.05$). Overall, these results could provide evidence for assessing the ecological risks of microplastics.

Keywords: polystyrene microspheres; *Tigriopus japonicus*; uptake; elimination; microalgae ingestion rates

微塑料(microplastics)通常指尺寸 <5 mm的塑料碎片、颗粒或纤维,海洋环境中的微塑料主要来源于大型塑料的破碎和风化^[1-2],以及工业原料的泄露和个人护理品的使用^[3]。微塑料广泛分布于海洋环境中,在大洋^[4]、近岸海域^[5]和极地^[6]均有微塑料检出。研究发现,北大西洋副热带环流区表层海水中微塑料丰度为 $13 \sim 501$ 个 \cdot m $^{-3}$ ^[4],对我国海域进行调查发现,黄海表层水体中微塑料丰度为 (0.330 ± 0.278) 个 \cdot m $^{-3}$ ^[5]。检出的微塑料主要成分为聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯、聚氯乙烯和聚酯等^[4-7]。

大量研究表明,微塑料能被浮游动物^[8-9]、贝类^[10-11]和鱼类^[12-13]等不同营养级海洋生物摄食并通过食物链传递^[14-15]。微塑料被摄入后会造成生物体消化道的物理损伤^[16]、摄食行为改变^[17]以及诱发炎症反应等^[18-19],对海洋生物存在潜在威胁。

浮游动物作为海洋食物网中的关键环节,在物质循环和能量传递过程中起着重要的作用,同时也影响污染物在食物链中的迁移^[14,20]。野外调查发现,中国南海及黄海海域采集的浮游生物(桡足类、毛颚类和短尾类等)体内均有微塑料检出,这表明,在自然环境中,浮游动物能够摄入环境中的微塑料^[21-22]。实验室研究发现,北大西洋的多种浮游动物能够摄入粒径为 $1.7 \sim 30.6$ μm 的聚苯乙烯(PS)微粒,并通过“假排泄物”将PS微粒排出体外,暴露在浓度为 7×10^3 个 \cdot mL $^{-1}$ 的PS溶液中的胸刺水蚤

(*Centropages typicus*),对微藻的摄食显著减少^[23]。近期研究发现,卤虫(*Artemia parthenogenetica*)幼体也可摄入浓度为 $1 \sim 1 \times 10^5$ 个 \cdot mL $^{-1}$ 的 10 μm 的PS微粒,且PS微粒可在卤虫消化道内停留 14 d以上^[24]。

微塑料被浮游动物摄入体内后,会对其存活、生长发育及繁殖能力造成不利影响。日本虎斑猛水蚤(*Tigriopus japonicus*)摄入粒径为 $0.05 \sim 6$ μm 的PS微粒后,个体出现死亡和繁殖能力下降^[25];卤虫(*A. parthenogenetica*)摄入粒径为 10 μm 的PS微粒后,会造成肠道上皮细胞损伤^[24];大型蚤(*Daphnia magna*)摄入粒径为 100 nm的PS微粒后,生长发育过程受到抑制,繁殖能力下降^[26]。目前,大多数研究主要集中在微塑料对海洋生物的毒性效应,但对于微塑料在浮游动物体内的毒动力学过程研究较少;因此,开展浮游生物对微塑料摄入和排出的动力学研究对评估微塑料的生态风险具有重要意义。

本研究使用海洋模式生物日本虎斑猛水蚤(*T. japonicus*)作为受试生物,探究了日本虎斑猛水蚤对 10 μm PS微粒的摄入和排出过程,以及添加PS微粒对其摄食行为的影响,以期科学评估微塑料的生态风险提供依据。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 仪器与试剂

荧光体式显微镜(Leica M205FA,德国);荧光倒置显微镜(Leica DMI4000B,德国)。

荧光聚苯乙烯塑料微粒(10 μm)分散液购自美国 Thermo Fisher 公司,浓度为 1.74×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ [24],浓硝酸(HNO_3)为分析纯,购自天津市科密欧化学试剂公司,人工海盐购自天津中盐海洋生物科学有限公司。

1.2 微藻培养

实验选用牟氏角毛藻(*Chaetoceros muelleri*)和小球藻(*Chlorella* sp.),藻类培养条件为温度(20 ± 1) $^\circ\text{C}$,光照强度约 2100 lux,光周期 12 h(L):12 h(D),培养基为 f2 培养基。

1.3 受试生物

日本虎斑猛水蚤驯养理化条件:温度(20 ± 1) $^\circ\text{C}$,光照强度约 2 100 lux,光周期 12 h(L):12 h(D),盐度 30.0 ± 0.46 ,pH 8.2 ± 0.12 ,溶解氧(DO)浓度(8.45 ± 0.53) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。以混合藻类投喂,饵料包括牟氏角毛藻和小球藻,投喂密度比例为 1:1,每 3 天投喂一次,投喂密度为 1×10^6 cells $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

1.4 实验分组

本研究通过 4 个实验探究了日本虎斑猛水蚤对 PS 微粒的摄入和排出的动力学过程及 PS 微粒的添加对其摄食行为的影响(表 1)。实验 I 和实验 II 主要考察日本虎斑猛水蚤体内 PS 微粒的摄入量 and 残留量随时间变化情况,实验 III 考察了日本虎斑猛水蚤与 PS 微粒的相互作用,实验 IV 考察了不同浓度 PS 微粒的添加对微藻生长的影响,以及浓度为 1×10^3 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 PS 微粒对日本虎斑猛水蚤对微藻摄食率的影响。

1.5 摄入(实验 I)和排出(实验 II)实验

对日本虎斑猛水蚤的最低微塑料摄入浓度进行

了预研究,结果表明,当 PS 微粒浓度 $< 1 \times 10^2$ 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,在日本虎斑猛水蚤体内无 PS 微粒检出,PS 微粒浓度为 1×10^3 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,适于开展 PS 微粒在日本虎斑猛水蚤体内的富集和排出动力学研究,此浓度远高于当前水环境中的微塑料检出浓度[4-7]。

实验暴露前,对荧光 PS 暴露溶液进行超声处理,使用硝酸纤维素滤膜($0.45 \mu\text{m}$, Sartorius ACN)进行抽滤,用荧光体式显微镜对 PS 微粒进行计数,从而确定 PS 溶液的实际暴露浓度。实验 I、实验 II 和实验 IV 中,在暴露前一天对日本虎斑猛水蚤投喂微藻,投喂密度为 1×10^5 cells $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。实验 III 中,暴露前对日本虎斑猛水蚤进行饥饿处理 24 h。

实验 I 中,根据暴露时长(0、3、6、9、12、24 和 48 h)设置 7 个实验组,每组 3 个平行,每个平行中暴露溶液体积为 20 mL,PS 微粒的浓度为 1×10^3 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$,并加入 10 只龄期一致(蚤龄为 (18 ± 1) d)的日本虎斑猛水蚤,置于恒温培养箱中培养,温度(20 ± 1) $^\circ\text{C}$,光照强度约 2 100 lux,光周期 12 h(L):12 h(D),总暴露时长为 48 h,暴露期间不喂食。分别于暴露 0、3、6、9、12、24 和 48 h 后,将每个平行中的 10 只日本虎斑猛水蚤取出,用人工海水冲洗 3 遍,置于 20 mL 玻璃闪烁瓶中,加入质量分数为 65% 的硝酸于 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 超声 40 min 进行消解(荧光 PS 微粒回收率为 $100.0\% \pm 1.3\%$ [27])。消解后,使用硝酸纤维素滤膜($0.45 \mu\text{m}$, Sartorius ACN)抽滤,并在荧光体式显微镜下对 PS 微粒进行观察和计数,从而计算日本虎斑猛水蚤对 PS 微粒的摄入量。

表 1 实验分组及聚苯乙烯 (PS) 微粒暴露浓度

Table 1 Groups and concentrations of polystyrene (PS)

实验分组 Groups	每个平行组日本 虎斑猛水蚤数量 Number of <i>T. japonicus</i> in each parallel group	微藻浓度 (cells $\cdot\text{mL}^{-1}$) Concentration of microalgae (cells $\cdot\text{mL}^{-1}$)	荧光 PS 微粒表观浓度 (个 $\cdot\text{mL}^{-1}$) Concentration of PS (particles $\cdot\text{mL}^{-1}$)	暴露时间/h Test time/h
I 摄入实验 Uptake experiment	10	0	1×10^3	0, 3, 6, 9, 12, 24, 48
II 排出实验 Elimination experiment	10	0	1×10^3	0, 3, 6, 12, 24, 48
III 日本虎斑猛水蚤与 PS 微粒的相互作用实验 The interaction between <i>T. japonicus</i> and PS particles	10	0	1×10^3	0, 3, 6, 9, 12, 24, 48
	0	1×10^5	0	0, 24, 48
微藻摄食率实验	0	1×10^5	1×10^3	0, 24, 48
IV Microalgal feeding rates experiment	0	1×10^5	1×10^4	0, 24, 48
	10	1×10^5	0	0, 24, 48
	10	1×10^5	1×10^3	0, 24, 48

实验 II 中,设置 6 个实验组(0、3、6、12、24 和 48 h),每组 3 个平行,每个平行中 10 只日本虎斑猛水蚤,每个平行中加入清洁的人工海水 20 mL。参照实验 I,预先将龄期一致(蚤龄为 (18 ± 1) d)的日本虎斑猛水蚤暴露于浓度为 1×10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PS 微粒溶液中培养 48 h,将日本虎斑猛水蚤用人工海水清洗 3 遍并转移至实验 II 对应的实验组中,继续培养 48 h,期间不喂食。培养条件与实验 I 一致,分别在转移后的 0、3、6、12、24 和 48 h,计算并观察日本虎斑猛水蚤体内 PS 微粒的残留量,方法与实验 I 一致。

1.6 日本虎斑猛水蚤与 PS 微粒的相互作用

实验 III 中,将饥饿处理 24 h 后的日本虎斑猛水蚤暴露于浓度为 1×10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PS 微粒溶液中,暴露期间不喂食。根据暴露时长(0、3、6、9、12、24 和 48 h)设置 7 个实验组,每组 3 个平行,每个平行 10 只龄期一致(蚤龄为 (18 ± 1) d)的日本虎斑猛水蚤,培养条件与实验 I 一致。分别于暴露 0、3、6、9、12、24 和 48 h 后,将日本虎斑猛水蚤取出,使用人工海水冲洗 3 遍,用质量分数为 4% 的甲醛溶液固定,荧光倒置显微镜观察 PS 微粒在日本虎斑猛水蚤体内分布情况和体表粘附情况。

1.7 微塑料对日本虎斑猛水蚤对微藻摄食率的影响(实验 IV)

实验 IV 中,为了考察微塑料对微藻生长的影响,将牟氏角毛藻暴露在浓度分别为 1×10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 和 1×10^4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PS 微粒溶液中。暴露 0、24 和 48 h 后,将暴露溶液转移至闪烁瓶中颠倒摇匀,用移液枪吸取 1 mL 溶液置于离心管中,立即使用倒置显微镜和血球计数板对溶液中的微藻进行计数,计算

溶液中微藻的密度。为了考察 PS 微粒对日本虎斑猛水蚤对微藻摄食率的影响,将日本虎斑猛水蚤暴露在浓度为 1×10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PS 微粒溶液中。暴露 0、24 和 48 h 后,将日本虎斑猛水蚤挑出,对暴露溶液中的微藻进行计数,并计算日本虎斑猛水蚤对微藻的摄食率,参考 Frost^[28] 计算哲水蚤(*Calanus pacificus*)对微藻摄食率的方法。

1.8 统计分析

采用 SPSS 16.0 软件对数据进行处理,实验结果以平均值 \pm 标准差(mean \pm S.D.)表示,采用 One-Way ANOVA(单因素方差分析)对实验 I ~ II 中 PS 微粒的摄入量和残留量间的差异进行显著性检验,采用 LSD 法进行多重比较,对实验 IV 中微藻密度间的差异和日本虎斑猛水蚤对微藻摄食率间的差异进行显著性检验, $P < 0.05$ 时认为具有显著性差异。

2 结果(Results)

2.1 日本虎斑猛水蚤对 PS 的摄入及排出

采用荧光体式显微镜对荧光 PS 微粒的浓度进行定量分析,暴露溶液中荧光 PS 微粒实测浓度如表 2 所示。

实验(I ~ IV)中均未出现生物体死亡。摄入实验(实验 I)研究结果表明,日本虎斑猛水蚤暴露在浓度为 1×10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PS 微粒溶液中 3 h 后,可在日本虎斑猛水蚤体内检出 PS 微粒,浓度为 (0.67 ± 0.21) 个 $\cdot \text{只}^{-1}$,且 PS 微粒的摄入量随着暴露时间增加呈现出逐渐增加的趋势,24 h 后达到最大值,为 (7.00 ± 2.44) 个 $\cdot \text{只}^{-1}$,之后日本虎斑猛水蚤体内 PS 微粒的含量降低,在 48 h 后降至 (3.20 ± 1.93) 个 $\cdot \text{只}^{-1}$ (图 1(a))。

表 2 荧光 PS 微粒实测浓度($n = 4$)

Table 2 Measured concentrations of fluorescently labelled PS ($n = 4$)

实验分组 Groups	荧光 PS 微粒表观浓度 Nominal concentrations of fluorescently labelled PS	
	1 000 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$	10 000 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$
	1 000 particles $\cdot \text{mL}^{-1}$	10 000 particles $\cdot \text{mL}^{-1}$
摄入实验 I Uptake experiment I	1 021 \pm 48	□
排出实验 II Elimination experiment II	1 025 \pm 38	□
日本虎斑猛水蚤与 PS 微粒的相互作用 III The interaction between <i>T. japonicus</i> and PS particles III	1 021 \pm 48	□
微藻摄食率实验 IV Microalgal feeding rates experiment IV	1 018 \pm 38	10 120 \pm 436

注: □表示未对 PS 微粒的浓度进行测定。

Note: □ indicates the concentration of PS particles was not measured.

排出实验(实验 II)研究结果表明,日本虎斑猛水蚤体内 PS 微粒的残留量随着时间增加呈现出逐渐降低的趋势(图 1(b)),培养 24 h 后,即可排出体内 $96.33\% \pm 1.18\%$ 的 PS 微粒,48 h 后,日本虎斑猛水蚤体内无 PS 微粒检出。ANOVA 统计分析结果表明,12、24 和 48 h 的实验组之间无显著性差异($P>0.05$)。

实验 III 通过荧光倒置显微镜对用质量分数为 4% 的甲醛固定的日本虎斑猛水蚤进行观察,发现日本虎斑猛水蚤摄入的 PS 微粒主要分布在消化道中(图 2(a)),在其排泄物中也可观察到 PS 微粒(图 2(c)),此外,PS 微粒也会粘附在日本虎斑猛水蚤的外壳和附肢(游泳肢)上(图 2(b))。

2.2 日本虎斑猛水蚤对微藻的摄食率

PS 微粒的添加在一定程度上会对牟氏角毛藻的生长产生抑制作用。在 PS 微粒浓度为 1×10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的实验组中,暴露 24 h 和 48 h 后,牟氏角毛藻的密度与对照组相比无显著性差异($P>0.05$);在 PS 微粒浓度为 1×10^4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的实验组中,暴露 24 h 和 48 h 后,牟氏角毛藻的密度与对照组相比分别降低了 $13.63\% \pm 8.72\%$ 和 $19.24\% \pm 1.26\%$ ($P<0.05$)(图 3)。日本虎斑猛水蚤对微藻的摄食率实验结果表明,在 PS 微粒浓度为 1×10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的实验组中,暴露 24 h 和 48 h 后,日本虎斑猛水蚤对微藻的摄食率与对照组相比无显著性差异($P>0.05$)(图 4)。

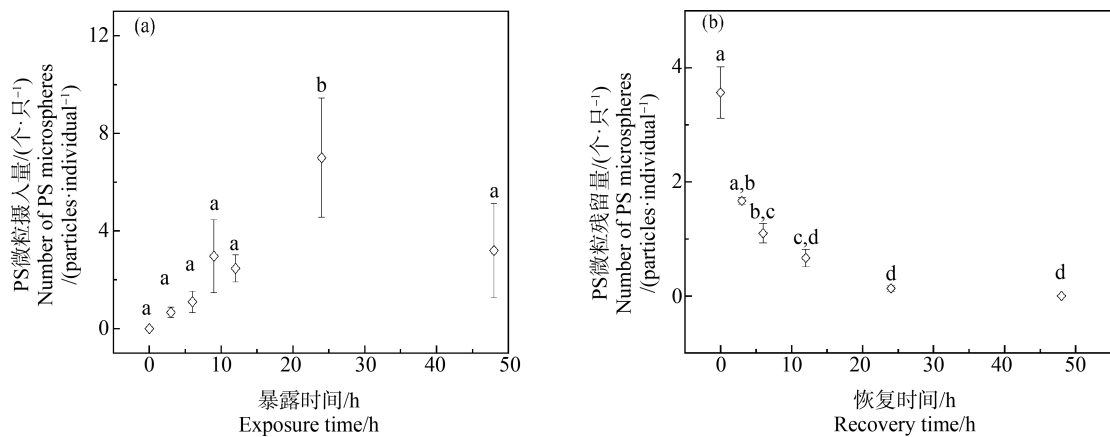


图 1 日本虎斑猛水蚤对荧光 PS 微粒的摄入情况 (a) 和暴露 48 h 后转移至清洁海水中 PS 微粒的排出情况 (b) (PS 暴露初始浓度为 1×10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$)

注:不同字母表明实验组间存在显著差异($P<0.05$)。

Fig. 1 The ingestion of fluorescent PS microspheres in *T. japonicus* (a) and the elimination of fluorescent PS microspheres by *T. japonicus* in clean seawater after pre-exposure to PS (concentrations 1×10^3 particles $\cdot \text{mL}^{-1}$) for 48 h (b)

Note: Different letters indicate statistically significant differences ($P<0.05$).

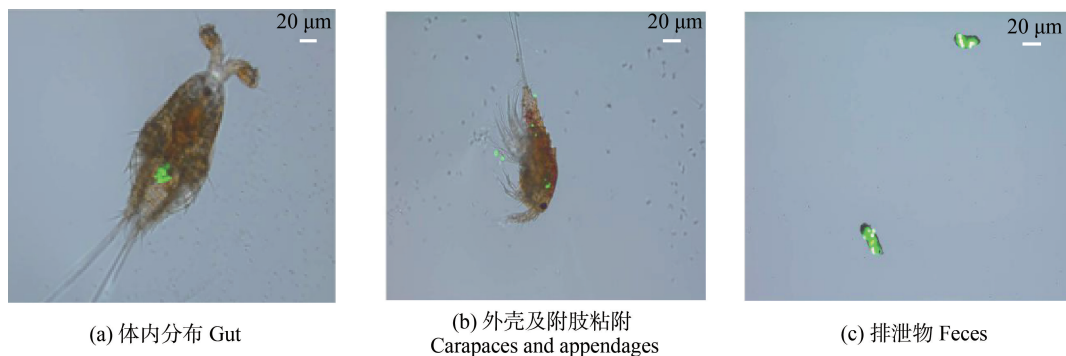


图 2 荧光 PS 微粒在日本虎斑猛水蚤体内分布、体表粘附及排泄物中分布情况

注:PS 暴露初始浓度为 1×10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$, 暴露时间为 24 h。

Fig. 2 Ingestion and conglutination of fluorescent PS microspheres in the gut, surface and feces of *T. japonicus*

Note: The exposure concentration is 1×10^3 particles $\cdot \text{mL}^{-1}$; the exposure time is 24 h.

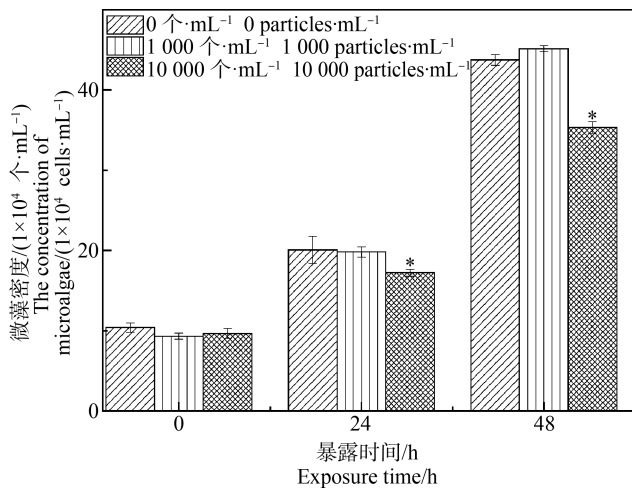


图3 不同浓度PS暴露组中微藻的密度

注: *表明实验组间存在显著差异($P < 0.05$)。

Fig. 3 The concentration of microalgae when exposed to PS microspheres at different concentrations

Note: * indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

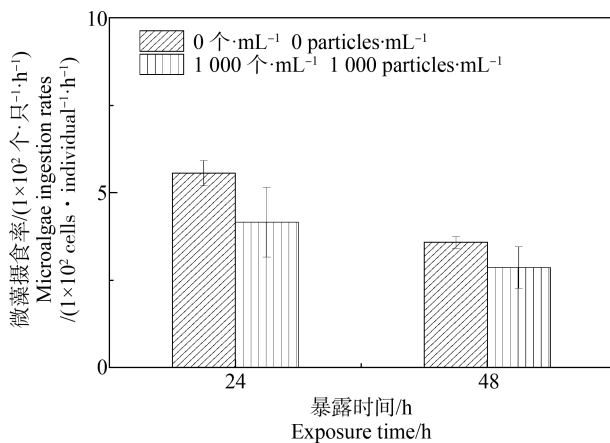


图4 不同浓度PS暴露组中日本虎斑猛水蚤对微藻摄食率

Fig. 4 The microalgae ingestion rates by *T. japonicus* when exposed to PS microspheres at different concentrations

3 讨论 (Discussion)

众多研究表明,不同类别的浮游动物能够摄入不同粒径范围的PS微粒。研究发现,卤虫(*A. parthenogenetica*)能够摄入粒径为1~20 μm的PS微粒^[14],海岛哲水蚤(*Calanus helgolandicus*)能够摄入粒径为20 μm的PS微粒^[20],模糊网纹蚤(*Ceriodaphnia dubia*)能摄入粒径为1~5 μm的PS微粒^[29]。本研究发现,日本虎斑猛水蚤能较快地摄入10 μm的PS微粒,暴露浓度为 1×10^3 个·mL⁻¹时,暴露3 h后,即可在体内检出。浮游动物对微塑料的摄入能力与微塑料的粒径大小、暴露浓度及食物的供给有关。大

型蚤(*D. magna*)对PS微粒的摄入量随着PS粒径的增加而减小,摄入量与PS粒径呈指数相关^[30];卤虫(*A. parthenogenetica*)对10 μm的PS微粒的摄入量随着PS浓度和暴露时长的增加而增加^[24];提供藻类食物时,大型蚤(*D. magna*)对2 μm的PS微粒的摄入量显著降低,且随着微藻密度增加,PS摄入量减少^[31]。

生物体对微塑料的排出能力受物种种类、微塑料粒径和食物的供给等因素的影响。1 μm和10 μm的PS微粒可在热带爪蟾(*Xenopus tropicalis*)幼体的鳃和消化道中残留6 d以上,且1 μm的PS微粒残留量远大于10 μm的PS微粒,食物的供给也会影响蝌蚪对微塑料的排出能力,缺乏食物的条件下,蝌蚪会摄入更多的PS微粒且很难将其排出^[32]。本研究中的排出实验II的结果表明,日本虎斑猛水蚤能够在3 h内开始排出体内的PS微粒,24 h后,可排出体内 $96.33\% \pm 1.18\%$ 的PS微粒,48 h后体内无荧光PS微粒检出。这说明,日本虎斑猛水蚤能够较快地排出体内的PS微粒,但实验室前期研究发现,10 μm的PS微粒可在卤虫体内停留14 d以上^[24],二者差异较大,因此,微塑料在不同生物体内的停留时间仍有待于进一步的研究。

微藻摄食率实验IV结果表明,PS微粒的添加在一定程度上会对微藻的生长产生抑制作用。研究发现,5 μm PS微粒对蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)的生长产生抑制作用^[33]。氨基修饰的2 μm PS微粒会显著降低硅藻(*Chaetoceros neogracile*)细胞内酶的活性,并对硅藻的生长产生不利影响^[34]。PS微粒浓度为 1×10^3 个·mL⁻¹时,PS微粒对日本虎斑猛水蚤对微藻的摄食率无显著影响($P > 0.05$),这表明,在环境浓度下,微塑料对日本虎斑猛水蚤对微藻摄食率无显著影响。当PS微粒浓度为 1×10^4 个·mL⁻¹时,PS微粒抑制了微藻的生长,无法确定PS微粒是否对日本虎斑猛水蚤的摄食率产生影响。

微塑料被浮游动物摄入后,不仅会造成物理损伤,如机械损伤、消化道阻塞等,同时也会对浮游生物的生长发育繁殖造成不利的影响,造成生物体的生长发育迟缓,降低生物体的繁殖力,诱发炎症反应等^[18,20]。微塑料的毒性效应也与其大小及化学成分有关。研究发现,日本虎斑猛水蚤暴露于粒径为0.05 μm的PS微粒溶液中,死亡率显著高于0.5 μm和6 μm的PS微粒实验组^[25]。氨基修饰的PS微粒会改变卤虫体内基因的表达,抑制卤虫的生长发育,

甚至导致个体死亡^[35],相较于未修饰的 PS 微粒,基团修饰的 PS 微粒对生物体毒性更大。

综上所述,本文探究了日本虎斑猛水蚤成体对荧光 PS 微粒的摄入、排出动力学规律。结果表明,PS 微粒能够较快地被日本虎斑猛水蚤摄入和排出,且 PS 微粒浓度 $>1 \times 10^4$ 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 时,对牟氏角毛藻的生长产生了抑制作用。目前有关于微塑料在生物体内的毒动力学过程及致毒机理仍有待于更加广泛和深入的研究。

通讯作者简介:王菊英(1967—),女,博士,研究员,主要研究方向为海洋环境质量基准和海洋环境监测评价方法学。

共同通讯作者简介:王莹(1980—),女,博士,研究员,主要研究方向为污染物海洋环境质量基准方法学、海洋生物效应和生态风险评价等。

参考文献(References):

- [1] Zarfl C, Matthies M. Are marine plastic particles transport vectors for organic pollutants to the Arctic? [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2010, 60(10): 1810-1814
- [2] Wu N, Zhang Y, Zhang X, et al. Occurrence and distribution of microplastics in surface water and sediments of two typical estuaries in Bohai Bay, China [J]. *Environmental Science: Processes and Impacts*, 2019, 21 (7): 1143-1152
- [3] Fendall L S, Sewell M A. Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2009, 58(8): 1225-1228
- [4] Enders K, Lenz R, Stedmon C A, et al. Abundance, size and polymer composition of marine microplastics $\geq 10 \mu\text{m}$ in the Atlantic Ocean and their modelled vertical distribution [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2015, 100(1): 70-81
- [5] Wang T, Zou X, Li B, et al. Microplastics in a wind farm area: A case study at the Rudong Offshore Wind Farm, Yellow Sea, China [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2018, 128: 466-474
- [6] Morgana S, Ghigliotti L, Estévez-Calvar N, et al. Microplastics in the Arctic: A case study with sub-surface water and fish samples off Northeast Greenland [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 242: 1078-1086
- [7] Cai M, He H, Liu M, et al. Lost but can't be neglected: Huge quantities of small microplastics hide in the South China Sea [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 633(15): 1206-1216
- [8] Messinetti S, Mercurio S, Parolini M, et al. Effects of polystyrene microplastics on early stages of two marine invertebrates with different feeding strategies [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 237: 1080-1087
- [9] Canniff P M, Hoang T C. Microplastic ingestion by *Daphnia magna* and its enhancement on algal growth [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 633(15): 500-507
- [10] Green D S. Effects of microplastics on European flat oysters, *Ostrea edulis* and their associated benthic communities [J]. *Environmental Pollution*, 2016, 216: 95-103
- [11] von Moos N, Burkhardt-Holm P, Höhler A K. Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel *Mytilus edulis* L. after an experimental exposure [J]. *Environmental Science and Technology*, 2012, 46(20): 11327-11335
- [12] Lei L, Wu S, Lu S, et al. Microplastic particles cause intestinal damage and other adverse effects in zebrafish *Danio rerio* and nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 619-620(1): 1-8
- [13] Veneman W J, Spaink H P, Brun N R, et al. Pathway analysis of systemic transcriptome responses to injected polystyrene particles in zebrafish larvae [J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 190: 112-120
- [14] Batel A, Linti F, Scherer M, et al. Transfer of benzo[a]pyrene from microplastics to *Artemia* nauplii and further to zebrafish via a trophic food web experiment: CYP1A induction and visual tracking of persistent organic pollutants [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2016, 35 (7): 1656-1666
- [15] Farrell P, Nelson K. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.) [J]. *Environmental Pollution*, 2013, 177: 1-3
- [16] 陈启晴, 杨守业, Henner H, 等. 微塑料污染的水生生态毒性与载体作用[J]. *生态毒理学报*, 2018, 13(1): 16-30
Chen Q Q, Yang S Y, Henner H, et al. The ecotoxicity and carrier function of microplastics in the aquatic environment [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2018, 13(1): 16-30 (in Chinese)
- [17] Cole M, Coppock R, Lindeque P K, et al. Effects of nylon microplastic on feeding, lipid accumulation, and moulting in a coldwater copepod [J]. *Environmental Science and Technology*, 2019, 53(12): 7075-7082
- [18] Sussarellu R, Suquet M, Thomas Y, et al. Oyster reproduction is affected by exposure to polystyrene microplastics [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(9): 2430-2435
- [19] Ziajahromi S, Kumar A, Neale P A, et al. Impact of microplastic beads and fibers on waterflea (*Ceriodaphnia dubia*) survival, growth, and reproduction: Implications of

- single and mixture exposures [J]. *Environmental Science and Technology*, 2017, 51(22): 13397-13406
- [20] Cole M, Lindeque P, Fileman E, et al. The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanus helgolandicus* [J]. *Environmental Science and Technology*, 2015, 49 (2): 1130-1137
- [21] Sun X, Li Q, Zhu M, et al. Ingestion of microplastics by natural zooplankton groups in the northern South China Sea [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 115 (1-2): 217-224
- [22] Sun X, Liang J, Zhu M, et al. Microplastics in seawater and zooplankton from the Yellow Sea [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 242: 585-595
- [23] Cole M, Lindeque P, Fileman E, et al. Microplastic ingestion by zooplankton [J]. *Environmental Science and Technology*, 2013, 47(12): 6646-6655
- [24] Wang Y, Mao Z, Zhang M, et al. The uptake and elimination of polystyrene microplastics by the brine shrimp, *Artemia parthenogenetica*, and its impact on its feeding behavior and intestinal histology [J]. *Chemosphere*, 2019, 234: 123-131
- [25] Lee K, Shim W J, Kwon O Y, et al. Size-dependent effects of micro polystyrene particles in the marine copepod *Tigriopus japonicus* [J]. *Environmental Science and Technology*, 2013, 47(19): 11278-11283
- [26] Besseling E, Wang B, Lüring M, et al. Nanoplastic affects growth of *S. obliquus* and reproduction of *D. magna* [J]. *Environmental Science and Technology*, 2014, 48 (20): 12336-12343
- [27] Wang Y, Zhang D, Zhang M, et al. Effects of ingested polystyrene microplastics on brine shrimp, *Artemia parthenogenetica* [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 244: 715-722
- [28] Frost B W. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behavior of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus* [J]. *Limnology and Oceanography*, 1972, 17(6): 805-815
- [29] Jaikumar G, Baas J, Brun N R, et al. Acute sensitivity of three cladoceran species to different types of microplastics in combination with thermal stress [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 239: 733-740
- [30] Kokalj A J, Kunej U, Skalar T. Screening study of four environmentally relevant microplastic pollutants: Uptake and effects on *Daphnia magna* and *Artemia franciscana* [J]. *Chemosphere*, 2018, 208: 522-529
- [31] Aljaibachi R, Callaghan A. Impact of polystyrene microplastics on *Daphnia magna* mortality and reproduction in relation to food availability [J]. *PeerJ*, 2018, 6(4): e4601
- [32] Hu L, Su L, Xue Y, et al. Uptake, accumulation and elimination of polystyrene microspheres in tadpoles of *Xenopus tropicalis* [J]. *Chemosphere*, 2016, 164: 611-617
- [33] Yi X, Chi T, Li Z, et al. Combined effect of polystyrene plastics and triphenyltin chloride on the green algae *Chlorella pyrenoidosa* [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(15): 15011-15018
- [34] Seoane M, Gonzalez-Fernandez C, Soudant P, et al. Polystyrene microbeads modulate the energy metabolism of the marine diatom *Chaetoceros neogracile* [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 251: 363-371
- [35] Bergami E, Pugnali S, Vannuccini M L, et al. Long-term toxicity of surface-charged polystyrene nanoplastics to marine planktonic species *Dunaliella tertiolecta* and *Artemia franciscana* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 189: 159-169
- ◆