

DOI: 10.11835/j.issn.2096-6717.2023.040



开放科学(资源服务)标识码 OSID:



纳米塑料对大型溞摄食及生长繁殖的影响

罗竣潇¹, 何艺欣¹, 余先怀², 唐炳然¹, 张丽雪¹, 杨永川¹, 何雨霏¹, 李宏¹
(1. 重庆大学三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400045; 2. 重庆市梁平区湿地保护中心, 重庆 405299)

摘要: 水环境中的纳米塑料(NPs)污染已成为全球性的环境问题。大型溞(*Daphnia magna*)作为淡水中重要的初级消费者之一,常被运用于基于生物操纵的富营养化水体修复,但关于NPs对大型溞摄食行为的影响尚不清晰。以大型溞和聚苯乙烯纳米塑料(PSNPs, 1 000 nm)为研究对象,探究了大型溞 21 d 内对产毒铜绿微囊藻(*Toxic Microcystis aeruginosa*)和斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)摄食倾向的变化及其生理响应。结果表明,以单一产毒铜绿微囊藻作为食物来源时,大型溞受到的发育和生殖毒性最强;与对照组(单一斜生栅藻饲喂)相比,高浓度产毒铜绿微囊藻组大型溞体内超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量分别升高至对照组的 3.97 倍和 4.55 倍,总产卵次数和体长分别降低了 73% 和 13%,且大型溞对产毒铜绿微囊藻的滤食率呈随时间延长而升高的趋势。但在 PSNPs (3.56 mg/L)暴露下,在初始藻密度为微囊藻:栅藻为 1:9 和微囊藻:栅藻为 2.5:7.5 处理组中,大型溞的滤食能力都显著下降;对照组添加 PSNPs 后,大型溞对斜生栅藻的滤食率降低了 32%。在产毒铜绿微囊藻和斜生栅藻共培养体系中,大型溞对产毒铜绿微囊藻的滤食率比对照组降低了 66%,缓解了大型溞所受的发育和生殖毒性,但不利于降低微囊藻的生物量。

关键词: 纳米塑料;大型溞;铜绿微囊藻;斜生栅藻;滤食率

中图分类号: X171.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 2096-6717(2024)02-0206-09

Effects of nano-plastics on grazing, growth and reproduction of *Daphnia Magna*

LUO Junxiao¹, HE Yixin¹, YU Xianhua², TANG Bingran¹, ZHANG Lixue¹,
YANG Yongchuan¹, HE Yufei¹, LI Hong¹

(1. Key Laboratory of the Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400045, P. R. China; 2. Chongqing Liangping District Wetland Protection Center, Chongqing 405299, P. R. China)

Abstract: The occurrence of nano-plastics (NPs) in the aquatic environment has become a global environmental problem. As one of the important primary consumers in freshwater, *Daphnia magna* is widely used in the biological manipulation and restoration of eutrophic water, while the potential influence of NPs on the feeding

收稿日期: 2022-12-02

基金项目: 国家自然科学基金(51609024, 41877472)

作者简介: 罗竣潇(1998-), 男, 主要从事修复生态学研究, E-mail: 302892045@qq.com。

李宏(通信作者), 男, 副教授, 博士生导师, E-mail: hongli@cqu.edu.cn。

Received: 2022-12-02

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (Nos. 51609024, 41877472)

Author brief: LUO Junxiao (1998-), main research interest: restoration ecology, E-mail: 302892045@qq.com.

LI Hong (corresponding author), associate professor, doctoral supervisor, E-mail: hongli@cqu.edu.cn.

behavior of *Daphnia magna* remains unclear. In the current study, we performed a 21-day experiment and investigated the effect of polystyrene nanoplastics (PSNPs, with size of 1000 nm) exposure on the grazing behavior and physiological response of *Daphnia magna* toward toxic *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus*. The results showed that in the treatment with toxic *Microcystis aeruginosa*, the developmental and reproductive toxicity of *Daphnia magna* were the most obvious. Compared with the control group (feed with *Scenedesmus obliquus*), the activity of superoxide dismutase (SOD) and the content of malondialdehyde (MDA) in the *Daphnia magna* that feed with *Microcystis aeruginosa* were 3.97 and 4.55 times higher. Meanwhile, the total number of oviposition and body length were decreased by 73% and 13%, respectively. And the filtration rate of *Daphnia magna* to toxic *Microcystis aeruginosa* increased with time. Upon exposure to 3.56 mg/L PSNPs, the grazing ability of *Daphnia magna* was significantly reduced in all treatments, and the feeding rate of *Daphnia magna* to *Scenedesmus obliquus* was decreased by 32% when PSNPs were added. In the mixed feeding systems containing toxic *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus*, exposure to PSNPs reduced the feeding rate of toxic *Microcystis aeruginosa* by 66%, and thereby alleviated the developmental and reproductive toxicity towards *Daphnia magna*, however, inhibited the reduction of *Microcystis aeruginosa* biomass.

Keywords: nano-plastics; *Daphnia magna*; *Microcystis aeruginosa*; *Scenedesmus obliquus*; feeding rate

纳米塑料(NPs, 粒径 $\leq 1\ 000\ \text{nm}$)是水环境中广泛分布的新型污染物^[1], 因具有较大的表面积和穿透细胞的能力而受到较多关注^[2]。据估计, 环境中NPs的赋存量大约是微塑料(MPs, 粒径 $\leq 5\ \mu\text{m}$)^[3]的 10^{14} 倍^[4]。全球范围内不同水环境中均发现了微塑料污染的现象, 在中国太湖中观察到的微塑料浓度为 $30\sim 50\ \text{mg/L}$ ^[5], 在美国洛杉矶河和圣加布里埃尔河取样的微塑料浓度为 $1.6\sim 41\ \text{mg/L}$ ^[6]。已有研究表明, NPs对不同营养级的水生生物均能产生不同程度的急性或慢性毒性作用。例如, 剂量为 $100\ \text{mg/L}$ 的聚苯乙烯纳米塑料(PSNPs, 粒径 $100\ \text{nm}$)暴露 $35\ \text{d}$ 后, 蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)的生长被抑制了 38% ^[7], 剂量为 $30\ \text{mg/L}$ 的 $70\ \text{nm}$ PSNPs长期暴露下, 大型溞(*Daphnia magna*)出现了畸胎现象^[8], 剂量为 $10\ \mu\text{g/L}$ 的 $105\ \text{nm}$ PSNPs暴露 $28\ \text{d}$ 后, 斑马鱼(*Danio rerio*)体内产生了氧化应激和损伤^[9]。

在水环境中, 浮游动物作为水生食物网中的重要一环, 在能量流动和物质循环过程中起着举足轻重的作用。其对水生系统的环境污染变化十分敏感, 常被用作水体重要指示类群。其中大型溞由于具有分布广、生活周期短、繁殖快、易于在实验室培养且对水环境中多种有毒化学物质敏感性等特点^[10-11], 已被广泛用于生态毒理学的相关研究^[12]。斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)是中国淡水中常见的浮游植物, 同时也是大型溞理想的食物来源^[13]。已有研究表明, 在短期暴露下, $5\ \mu\text{m}$ 的聚苯乙烯微塑料(PSMPs)在抑制斜生栅藻生长的同时, 由于大型

溞不能分辨PSNPs和藻细胞, 还会导致大型溞对斜生栅藻的摄食量降低^[14]。铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)是蓝藻水华中的主要优势种^[15]。然而, 由于蓝藻不能提供足量的大型溞生长发育所必需的重要甾醇和脂肪酸, 单一摄食会造成大型溞营养不良和发育障碍^[16]。此外, 产毒铜绿微囊藻合成并释放的微囊藻毒素也会对大型溞产生多种不利影响, 包括影响其摄食能力、改变肠道菌群组成、抑制生长繁殖、降低存活率等^[17]。大型溞通常不具备选择性摄食的能力, 食物的粒径和可达性会直接影响其滤食率^[18-19]。在自然环境中, 大型溞往往与多种浮游植物共存, 其对不同藻类的摄食行为会直接影响水生生态系统的营养结构, 随着水环境中NPs赋存量的增加, 其是否会影响大型溞对不同藻的取食行为尚未可知。

为揭示NPs对大型溞摄食倾向的影响, 以大型溞为受试生物, 以PSNPs($1\ \mu\text{m}$)急性毒性试验结果中 96h-LC_{50} 的 5% 为暴露浓度, 以斜生栅藻和产毒铜绿微囊藻进行不同的食物配比, 探究大型溞在PSNPs暴露下对不同藻类摄食倾向的变化及其生长繁殖能力的响应, 重点关注PSNPs对大型溞摄食产毒铜绿微囊藻能力的影响, 以期为PSNPs对水生生态系统食物链结构的影响和生态风险评估提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用大型溞、斜生栅藻(FACHB 416)、产

毒铜绿微囊藻(FACHB 905)均购自中国科学院水生生物研究所(武汉),PSNPs单分散液(1 000 nm, 50 mg/mL)购自中科雷鸣科技有限公司(北京),并使用扫描电子显微镜(SEM, ZEISS Gemini 300, 蔡司, 德国)、傅里叶红外光谱(FTIR, Nicolet iS50, 赛默飞世尔, 美国)、纳米粒度及Zeta电位分析仪(Nano ZS90, 马尔文, 英国)进行表征^[20]。大型溞在M4培养基中进行纯化培养,培养条件为:水温(20±1)℃、pH值7.2、溶氧量7 mg/L、光照强度2 000 lx(光:暗=16 h:8 h),每周更换3次培养液,每天投喂斜生栅藻(2×10^5 cells/mL)^[21],同时,斜生栅藻和两种铜绿微囊藻藻种在BG-11培养基中进行扩大培养。

1.2 PSNPs对大型溞的急性毒性

参照OECD国际标准^[22],分别进行7种浓度(1、5、10、20、50、100、200 mg/L)的PSNPs对大型溞的48 h急性毒性试验。在每个250 mL烧杯中(培养液体积100 mL)放入10只6~24 h经过饥饿处理的幼溞,试验过程中不喂食不换液,每个浓度设置3个重复,暴露48 h后记录幼溞的死亡率并计算其半致死剂量(LC_{50})^[23]。

1.3 PSNPs对大型溞的长期暴露

选用出生6~24 h的健康幼溞,取 LC_{50} 的5%为PSNPs的暴露剂量,进行21 d暴露试验,在每周的第2、4、7天换液,新换液的总藻密度均为 2×10^5 cells/mL。分别设置纯栅藻组(*Scenedesmus oblique*组,简称S组,即对照组)和纯产毒铜绿微囊藻组(*Toxic Microcystis aeruginosa*组,简称T组),并设置微囊藻与栅藻配比的试验组:微囊藻:栅藻为1:9(T1S组),微囊藻:栅藻为2.5:7.5(T2.5S)。在此基础上,再设置添加PSNPs暴露的处理组,分别标记为S+NP组、T+NP组、T1S+NP组、T2.5S+NP组,共8个处理组。每个处理组含10只大型溞,使用100 mL玻璃试管进行试验。

1.4 大型溞生理和摄食响应测定

每次换液时,分别计算大型溞对每种藻的滤食率。换液时取旧摇匀的培养液,该方法在显微镜下采用血球计数板计数法,分别计算斜生栅藻和铜绿微囊藻的藻密度^[24],并计算其对每种藻的滤水率 F 和滤食率 I 。

$$F = V(\ln C_0 - \ln C_t) / (nt)$$

$$I = F(C_0 C_t)^{1/2}$$

式中: V 为体积, μL ; n 为大型溞个数; C_0 为藻细胞初始密度,cells/mL; C_t 为藻细胞最终密度,cells/mL; t 为时间,h。

在监测大型溞对不同藻取食倾向的变化趋势的同时,记录每组10只大型溞的怀第一胎时间、怀卵数和总产卵次数,并在21 d试验结束后用光学显微镜观察每组大型溞的体貌特征。

1.5 大型溞抗氧化系统的响应

参照试验组设置,每组3个平行,每个平行含200只健康幼溞,进行21 d试验,其间移除新生幼溞和死亡个体,在第7、14、21天,分别从每个体系中取出50只大型溞进行超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量的测定。将取出的大型溞用PBS冲洗3次,将大型溞以1 g:9 mL的比例添加4℃的PBS,置冰中用玻璃匀浆器研磨。匀浆后在4℃下4 000 r/min离心10 min收集上清液,用试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定SOD活性和MDA含量,并用BCA总蛋白试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定离心前匀浆的总蛋白含量,进行数据归一化处理。

1.6 数据处理

利用SPSS 26.0软件对试验数据的显著性差异进行分析,其中S组和S+NP组的大型溞滤食率使用独立样本T检验,其余数据使用单因素ANOVA分析(即Duncan检验), $p < 0.05$ 表示试验样本之间存在显著性差异,数据作图采用Origin 9.0软件。

2 结果

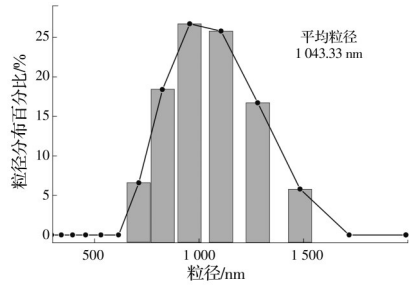
2.1 PSNPs的表征和急性毒性

表征结果显示,PSNPs的平均粒径(Z-average)为1 043.33 nm(图1(a)),SEM观察显示PSNPs呈大小均匀、表面光滑的球形(图1(b))。FTIR谱图(图1(c))中,均在3 082.68、3 059.71、3 026.07、2 850.52 cm^{-1} 等波长处观察到了PS的特征芳香环C—H单键振动^[25]。通过急性毒性试验计算得出研究所用PSNPs对大型溞的 LC_{50} 为71.192 mg/L,取其5%(3.56 mg/L)作为慢性暴露剂量。

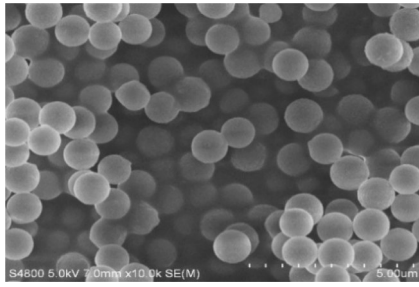
2.2 大型溞的滤食率及摄食倾向

S组中(图2(a)),大型溞最大滤食率为 62.33×10^3 cells/(ind·h)(第18天),在PSNPs暴露下(S+NP组),大型溞对斜生栅藻的摄食能力从第4天开始显著下降,在第9天同比降低了43%,第21天时,PSNPs暴露组的滤食率为 31.84×10^3 cells/(ind·h),比S组降低了32%。单一产毒铜绿微囊藻喂食处理组中的大型溞在试验进行的第一周内全部死亡。

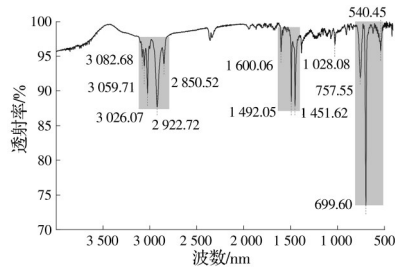
值得注意的是,整个试验过程中,PSNPs的暴露显著降低了大型溞对产毒微囊藻的滤食。T1S+



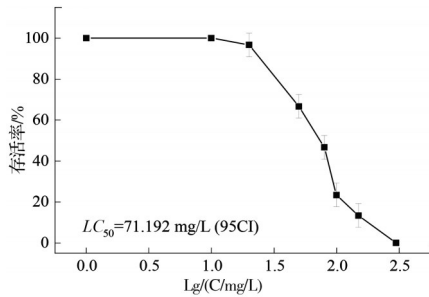
(a) PSNPs的粒径分布



(b) PSNPs的扫描电镜图



(c) PSNPs的FTIR谱图



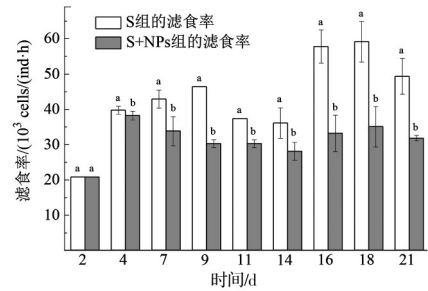
(d) PSNPs对大型溞的急性毒性

图 1 PSNPs的表征和对大型溞急性毒性

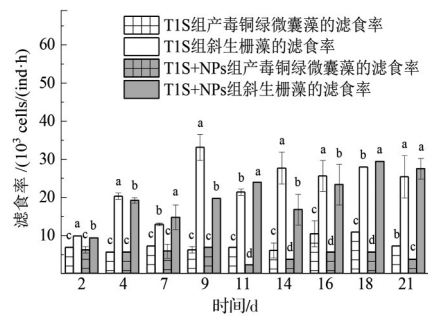
Fig. 1 Characterization of PSNPs and their acute toxicity to *Daphnia magna*

NP_s组中,大型溞在第21天对产毒铜绿微囊藻的摄食百分比(占总摄食量的比例)仅为12.07%(图2(b)),比T1S组降低了10%。这一现象在产毒铜绿微囊藻占比为25%的混合喂食组中更为显著。在T2.5S组中(图2(c)),大型溞对产毒铜绿微囊藻的滤食率总体高于T1S,且有随时间增高的趋势,第21天对铜绿微囊藻的滤食率达到 15.22×10^3 cells/(ind·h),是第2天的2.06倍;但PSNPs的暴露(T2.5S+NP_s组)显著降低了大型溞对铜绿微囊藻的摄食能力,第21天的滤食率为 5.19×10^3 cells/

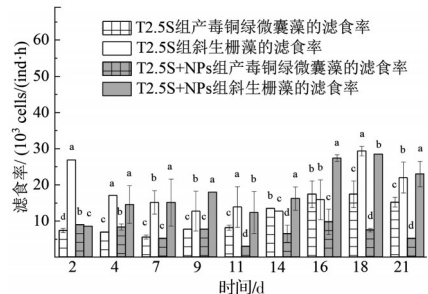
(ind·h),比T2.5S组降低了65.89%。总体而言,T2.5S+NP_s组中大型溞对产毒微囊藻的摄食率呈随时间降低的趋势。



(a) 大型溞在S组和S+NP_s组中对斜生栅藻的滤食率



(b) 大型溞在T1S组和T1S+NP_s组中对斜生栅藻和产毒铜绿微囊藻的滤食率



(c) 大型溞在T2.5S组和T2.5S+NP_s组中对斜生栅藻和产毒铜绿微囊藻的滤食率

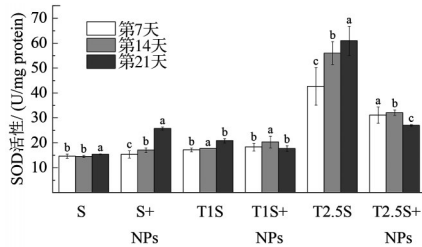
图 2 大型溞对斜生栅藻和产毒铜绿微囊藻的滤食率
Fig. 2 The feeding rate of *Daphnia magna* to *Scenedesmus oblique* and *Toxic Microcystis aeruginosa*

2.3 大型溞抗氧化系统的响应

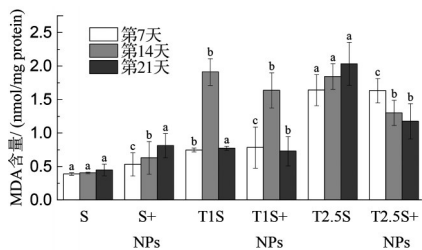
在S组(对照组)中,PSNPs暴露对大型溞SOD活性(图3(a))和MDA含量(图3(b))均有显著的促进作用,且随时间递增。PSNPs暴露下(S+NP_s组),SOD活性和MDA含量的最大值(25.71 U/mg prot和0.81 nmol/mg prot)均出现在第21天,分别为S组的1.67和1.82倍。在T1S组中,SOD含量在第21天最高(20.79 U/mg prot),比对照组高出35%;而MDA含量在第14天急剧升高,达到1.91 nmol/mg prot,为对照组同期的4.74倍。在PSNPs

暴露下,T1S组中SOD活性和MDA含量的升高有所抑制,其中,第14天的MDA含量为1.64 nmol/mg prot,较T1S下降14.36%。

在T2.5S组中,大型蚤体内SOD和MDA含量



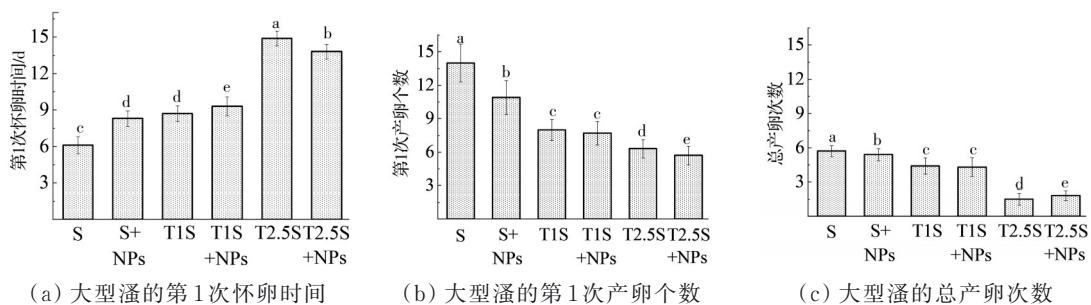
(a) 大型蚤SOD活性的动态变化



(b) 大型蚤MDA含量的动态变化

图3 大型蚤氧化系统响应的动态变化

Fig. 3 Dynamic changes in the response of the oxidative system of *Daphnia magna*



(a) 大型蚤的第1次怀卵时间

(b) 大型蚤的第1次产卵个数

(c) 大型蚤的总产卵次数

图4 大型蚤的繁殖能力变化

Fig. 4 The response of reproductive ability in *Daphnia Magna*

2.5 大型蚤体貌的变化

如图5所示,S组中,大型蚤第21天平均体长最长(2.96 mm),肠道呈健康的渐变深绿色,PSNPs的暴露使大型蚤体长降低了8.36%,且肠道内容物颜色明显变浅,该现象在其他PSNPs暴露组中均有发生。没有PSNPs暴露时,T2.5S组中大型蚤的体长最短(2.03 mm),比对照组降低了14%。PSNPs的暴露均降低了大型蚤的体长。在T1S+ NPs组和T2.5S+ NPs组中,PSNPs的暴露分别使大型蚤的最终体长降低了1.13%、2.11%。其中,在T2.5S+ NPs组中,大型蚤出现休眠卵,即开始有性生殖,这也是大型蚤生存环境恶劣的标志^[26]。

均呈现出随时间上升的趋势,并于第21天达到峰值(60.90 U/mg prot和2.03 nmol/mg prot),分别为对照组的3.97和4.55倍。在T2.5S+ NPs组中,PSNPs的暴露显著降低了由产毒铜绿微囊藻诱导的氧化损伤,在第7、14、21天的SOD含量分别比T2.5S组同期降低了26.95%、42.71%和55.76%,MDA含量降低了0.41%、29.49%和42.15%。总体而言,在产毒铜绿微囊藻与斜生栅藻混合饲料组中,PSNPs的暴露降低了大型蚤所受的氧化损伤。

2.4 大型蚤繁殖能力的变化

S组中,大型蚤在试验第6天怀卵(图4(a)),第1次产卵约13个(图4(b)),总产卵约6次(图4(c)),PSNPs的暴露使大型蚤首次产卵时间延长2.3 d,第1次产卵数降低22%,总产卵次数降低5%。产毒铜绿微囊藻与斜生栅藻的混合喂养均能显著降低大型蚤的繁殖能力,其中,T2.5S组抑制最显著,第1次怀卵时间延后约9 d,第1次产卵数和总产卵次数分别降低了55%和73%。与T1S组和T2.5S组相比,PSNPs的暴露使大型蚤所受生殖毒性减轻,T1S+ NPs组的第1次怀卵时间显著提前,T2.5S+ NPs组中总产卵次数比T2.5S组提高了20%。

3 讨论

3.1 PSNPs暴露降低了大型蚤对单一藻的摄食能力

摄食行为是水生动物最基本的行为之一,可直观反映环境变化对其机体的影响,一般来说,大型蚤能够牧食1~70 μm的颗粒^[27]。有研究表明,1~50 μm的MPs在肠道内的积累是导致大型蚤活动抑制和受到毒性的主要原因^[28]。粒径的大小会直接影响微纳塑料(MNPs)在大型蚤体内的积累,具体而言,粒径接近大型蚤可摄食藻类的MNPs能在大型蚤肠道中大量积累,造成伪饥饿,而尺寸较大的MPs则会被大型蚤胸肢上的滤器拦截,而不能进入大型蚤的消化系统^[29]。也有研究发现,纳米塑料能

通过损伤大型溞的食物过滤器,堵塞消化道,降低其摄食率^[19]。本研究中,当使用单一藻种饲喂时,1 000 nm的PSNPs暴露显著降低了大型溞对斜生栅藻和微囊藻的摄食能力,对大型溞造成了氧化胁迫和生殖毒性,并显著限制了大型溞的体长发育,这与前人有关MNP对大型溞长期暴露的研究结果一致。例如,Rist等^[30]的研究发现,1 mg/L的PSNPs(200 nm)暴露21 d后,大型溞对月牙藻(*Raphidocelis subcapitata*)的摄食能力降低了21%,而本研究中S+NPs组摄食率降低更多,可能是由于PSNPs的暴露浓度更高(3.56 mg/L)。此外,Trotter等^[31]的研究也发现,101.6 mg/L的PSMPs(13 μ m)暴露19 d后,显著降低了大型溞的体长和

繁殖能力。

An等^[32]的研究表明,2.1 $\times 10^7$ 个/L的MPs(25 μ m)暴露21 d后,MPs颗粒能够进入大型溞体内并大量累积,使其对蛋白核小球藻摄食能力降低了18%,并最终显著降低了大型溞的体长和总子代数。由此可见,较小粒径的MNP能够通过抑制大型溞对藻类的取食,造成大型溞的营养不良,从而对其产生慢性毒性^[33]。在本研究中,与栅藻单独饲喂相比,单一产毒铜绿微囊藻喂食处理组中的大型溞在试验进行的第1周内全部死亡。这可能与产毒铜绿微囊藻的体内的藻毒素有关。此外,微囊藻合成并释放的蛋白酶抑制剂,也可能对大型溞的消化系统产生显著的负面影响^[19]。

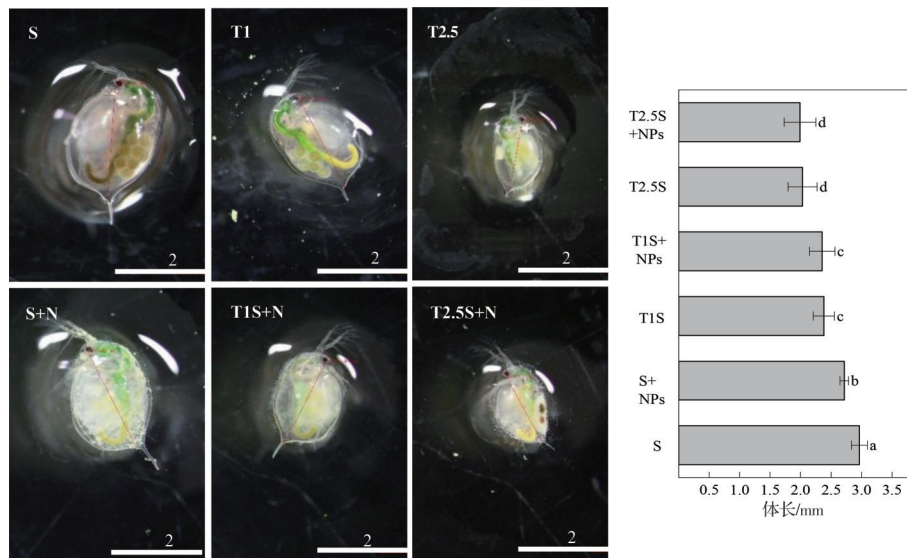


图5 大型溞的体长形貌

Fig. 5 The body length and morphology of *Daphnia magna*

3.2 NPs暴露降低了混合喂养时大型溞对产毒微囊藻的摄入量

产毒微囊藻与栅藻混合饲喂时,大型溞受到了显著的氧化损伤、生殖毒性,表现出明显的MDA积累、繁殖能力降低和体长减小,且以上负面效应在T2.5S组中比在T1S组中更显著。Vilar等^[34]的研究表明,当使用不同比例的产毒铜绿微囊藻和单针藻(*Monoraphidium* sp.)饲喂大型溞时,产毒微囊藻的比例越高,大型溞摄食能力和体长的降低越明显;Akbar等^[35]的研究表明,以2:8(产毒微囊藻:蛋白核小球藻)的比例饲喂大型溞14 d后,大型溞的存活率、体长、子代数均显著降低,以上研究成果均与本研究的结果相似。由此可见,由于产毒微囊藻缺乏多不饱和脂肪酸及其合成并释放的微囊藻毒素的胁迫,其会对大型溞造成发育和生殖毒性是共性现象^[36]。此外,T2.5S组中大型溞对产毒微囊藻的摄食在前17 d有明显的升高趋势,前人研究中

也发现,在产毒藻的暴露下,大型溞对绿藻的摄食能力会显著降低并摄入更多的产毒藻,并推测可能是由于微囊藻粒径比栅藻更小、更易被亚健康状态的大型溞取食^[34, 37],这说明在与产毒微囊藻的较长期共存下,大型溞受其胁迫程度会随着时间加剧,从而对大型溞的种群数量产生较大的负面影响。

值得注意的是,还发现了在栅藻和产毒微囊藻混合饲喂时,随着PSNPs暴露时间的延长,大型溞倾向于取食更多的栅藻,产毒微囊藻的摄食百分比明显降低,且SOD活性和MDA含量均同比低于没有PSNPs暴露的处理组。这一现象在T2.5S+NPs组中比在T1S+NP组中更明显,在第21天时,大型溞对产毒微囊藻的摄食百分比分别比T2.5S组和T1S组降低了22%和10%。MNP进入浮游动物消化系统后能积累并形成“伪饱腹感”已经达成共识^[38],MNP积累造成的能量缺失会引起大型溞体内精氨酸激酶(AK)表达量上调作为补偿反应,

一定程度上能够提高大型溞的抗逆能力^[39]。虽然前人的研究以单独研究产毒微囊藻对大型溞的影响或 MNPs 对大型溞的影响为主,鲜有将二者结合起来的研究,但结合本研究和前人的研究成果可以推测,在 PSNPs 的暴露下,一方面,PSNPs 在大型溞肠道内的积累,可以导致个体物理损伤、干扰其内分泌、抑制其生长发育、降低其生殖能力和引起氧化应激,甚至增加其畸形率和死亡;另一方面,摄入的 PSNPs 所导致的伪饱腹感降低了大型溞对产毒微囊藻的摄入量,从而抑制了由产毒微囊藻介导的在 T2.5S 组中大型溞对微囊藻摄食增多的趋势,持续性地减少了由产毒微囊藻摄入而引发的微囊藻毒素毒性和营养不良,另外,由 PSNPs 积累所引发的伪饥饿,在一定程度上引发了大型溞体内的能量补偿反应,提高了大型溞的抗逆能力,并最终使得 PSNPs 暴露组中大型溞所受的发育毒性比没有 PSNPs 暴露组中的更低。

基于此,认为高产毒微囊藻占比组中由 PSNPs 暴露介导的大型溞摄食倾向的变化可能如图 6 所示。在该体系中,初始时大型溞会摄食一定量的产毒微囊藻(I),但随着体内产毒微囊藻的积累,大型溞在营养缺失的条件下,还会受到藻毒素的毒性作用(II),进而摄食更多粒径更小的微囊藻,其摄食的产毒藻会越多,受到的毒性作用也会更大,并最终造成较强的发育和生殖毒性(III);PSNPs 的暴露在产生伪饱腹感降低大型溞总摄食量的同时,也降低了大型溞对产毒微囊藻的摄食,在相对较低的藻毒素胁迫下,大型溞取食更多的微囊藻的趋势被抑制(IV),打破了藻毒素胁迫下形成的恶性循环,并最终减缓了大型溞所受到的发育和生殖毒性(V)。

3.3 环境意义

大型溞作为水环境中分布广泛的初级消费者,

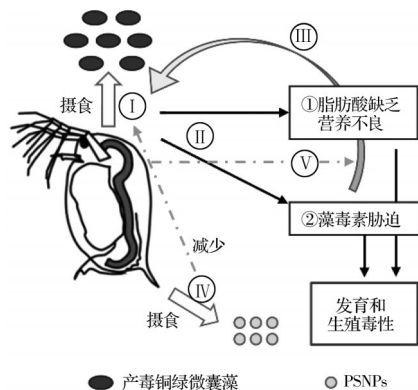


图 6 PSNPs 改变大型溞摄食倾向的机理图

Fig. 6 Mechanism of PSNPs altering the grazing propensity of *Daphnia magna*

由于其较好的对各类浮游植物的牧食能力和较强的繁殖能力,常被用于富营养化水体的生态环境修复,特别是因其能够一定程度上控制有害蓝藻水华的发生,而一度被称为“食藻虫”^[40]。在自然水体中,一旦蓝藻在浮游植物群落中占主导地位,它们就和浮游细菌一起,在富营养化水体中成为浮游动物的主要能量来源,而蓝藻本身释放藻毒素和低营养的特点,会反过来限制浮游动物的活动和牧食能力^[41]。换言之,大型溞如果在短时间内摄入过量产毒铜绿微囊藻,会导致其种群迅速衰弱。研究发现,在食物来源中有产毒铜绿微囊藻时,大型溞受到氧化损伤、生长抑制和生殖毒性,而这些作用在 PSNPs 的暴露下被缓解,其主要机理是其对 PSNPs 的摄食持续降低大型溞对产毒微囊藻的摄入量。因此,在健康水环境中,PSNPs 的暴露会不利于大型溞的正常取食并抑制其发育繁殖;而在特定环境下(如有害蓝藻水华发生时),短期而言,PSNPs 的存在会降低大型溞的“抑藻能力”,而在较长时间尺度上,水环境中的 PSNPs 可能有利于大型溞种群结构的稳定,即降低大型溞的死亡率,维持大型溞“抑藻能力”的持续性,从而有利于构建更健康的水生生态系统的群落结构。另外,PSNPs 暴露下大型溞对栅藻摄食率增加这一现象,可能会削弱栅藻对微囊藻的竞争,进而不利于浮游植物群落的重构。以上推测需要在更大尺度的体系中进行探究论证。

4 结论

PSNPs 作为单一胁迫时,大型溞对斜生栅藻的摄食率在 21 d 内降低了 32%,并对大型溞产生由营养不良所主导的发育和生殖毒性。高浓度铜绿微囊藻暴露导致大型溞总产卵次数和体长分别降低了 73% 和 13%。而当大型溞受到 PSNPs 和产毒铜绿微囊藻的双重胁迫时,其对斜生栅藻的滤食率降低了 32%,对产毒铜绿微囊藻的滤食率降低了 66%。这种捕食倾向的改变一方面减缓了由藻毒素主导的大型溞所受到的发育和生殖毒性,可能有利于维持大型溞的“抑藻能力”,另一方面可能减弱斜生栅藻对铜绿微囊藻的竞争,进而影响浮游植物群落结构。

参考文献

- [1] HARTMANN N B, HÜFFER T, THOMPSON R C, et al. Are we speaking the same language? Recommendations for a definition and categorization framework for plastic debris [J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(3): 1039-1047.

- [2] COLE M, GALLOWAY T S. Ingestion of nanoplastics and microplastics by *Pacific Oyster* larvae [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(24): 14625-14632.
- [3] ROCHMAN C M. Microplastics research-from sink to source [J]. *Science*, 2018, 360(6384): 28-29.
- [4] BESSELING E, REDONDO-HASSELERHARM P, FOEKEMA E M, et al. Quantifying ecological risks of aquatic micro- and nanoplastic [J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2019, 49(1): 32-80.
- [5] SU L, XUE Y G, LI L Y, et al. Microplastics in Taihu Lake, China [J]. *Environmental Pollution*, 2016, 216: 711-719.
- [6] MOORE C, LATTIN G, ZELLERS A. Quantity and type of plastic debris flowing from two urban rivers to coastal waters and beaches of Southern California [J]. *Revista De Gestão Costeira Integrada - Journal of Integrated Coastal Zone Management*, 2011, 11(1): 65-73.
- [7] MAO Y F, AI H N, CHEN Y, et al. Phytoplankton response to polystyrene microplastics: Perspective from an entire growth period [J]. *Chemosphere*, 2018, 208: 59-68.
- [8] BESSELING E, WANG B, LÜRLING M, et al. Nanoplastic affects growth of *S. obliquus* and reproduction of *D. Magna* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(20): 12336-12343.
- [9] ZHOU R R, LU G H, YAN Z H, et al. Interactive transgenerational effects of polystyrene nanoplastics and ethylhexyl salicylate on zebrafish [J]. *Environmental Science: Nano*, 2021, 8(1): 146-159.
- [10] 刘建超, 马雨辰, 张凌玉, 等. 红霉素对大型溞生殖、生长和基因表达的生态毒理效应[J]. *生态学报*, 2022, 42(19): 8105-8113.
LIU J C, MA Y C, ZHANG L Y, et al. Ecotoxicological effects of erythromycin on reproduction, growth and gene expression of *Daphnia Magna* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(19): 8105-8113. (in Chinese)
- [11] 程瑞雪, 邓斌, 王亚玲, 等. 大型溞(*Daphnia magna*)线粒体基因组的测定与序列分析[J]. *湖泊科学*, 2016, 28(2): 414-420.
CHENG R X, DENG B, WANG Y L, et al. Complete mitochondrial genome sequence of *Daphnia Magna* (Crustacea: Cladocera) from Huaihe in China [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2016, 28(2): 414-420. (in Chinese)
- [12] 王茜, 郭鸽飞, 王兰. 镉对大型溞摄食能力和相关生理指标的影响[J]. *水生生物学报*, 2018, 42(3): 616-621.
WANG Q, GUO H F, WANG L. Effect of cadmium on the feeding capacity and physiological status of *Daphnia Magna* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, 42(3): 616-621. (in Chinese)
- [13] 姜航, 丁剑楠, 黄叶菁, 等. 聚苯乙烯微塑料和罗红霉素对斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 和大型溞 (*Daphnia Magna*) 的联合效应研究[J]. *生态环境学报*, 2019, 28(7): 1457-1465.
JIANG H, DING J N, HUANG Y J, et al. Combined effects of polystyrene microplastics and roxithromycin on the green algae (*Scenedesmus obliquus*) and waterflea (*Daphnia Magna*) [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2019, 28(7): 1457-1465. (in Chinese)
- [14] CHEN Q Q, LI Y, LI B W. Is color a matter of concern during microplastic exposure to *Scenedesmus obliquus* and *Daphnia Magna*? [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 383: 121224.
- [15] 方道艳, 施丽梅, 李朋富, 等. 温度对铜绿微囊藻群体培养体系中细菌群落组成及稳定性的影响[J]. *湖泊科学*, 2021, 33(6): 1660-1674.
FANG D Y, SHI L M, LI P F, et al. Effects of temperature on composition and stability of bacterial community in colonial *Microcystis aeruginosa* culture systems [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2021, 33(6): 1660-1674. (in Chinese)
- [16] BOJADZIJA SAVIC G, COLINET H, BORMANS M, et al. Cell free *Microcystis aeruginosa* spent medium affects *Daphnia Magna* survival and stress response [J]. *Toxicol: Official Journal of the International Society on Toxicology*, 2021, 195: 37-47.
- [17] LI Y R, ZHU Y Y, MA L L, et al. Toxic microcystis reduces tolerance of daphnia to increased chloride, and low chloride alleviates the harm of toxic microcystis to daphnia [J]. *Chemosphere*, 2020, 260: 127594.
- [18] DEMOTT W R, GULATI R D, VAN DONK E. Daphnia food limitation in three hypereutrophic Dutch lakes: Evidence for exclusion of large-bodied species by interfering filaments of cyanobacteria [J]. *Limnology and Oceanography*, 2001, 46(8): 2054-2060.
- [19] LADDS M, JANKOWIAK J, GOBLER C J. Novel high throughput sequencing - fluorometric approach demonstrates *Microcystis* blooms across western Lake Erie are promoted by grazing resistance and nutrient enhanced growth [J]. *Harmful Algae*, 2021, 110: 102126.
- [20] HE Y X, LI J, CHEN J C, et al. Cytotoxic effects of polystyrene nanoplastics with different surface functionalization on human HepG2 cells [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 723: 138180.
- [21] WANG P, LI Q Q, HUI J, et al. Metabolomics reveals the mechanism of polyethylene microplastic toxicity to *Daphnia magna* [J]. *Chemosphere*, 2022, 307: 135887.
- [22] 李勤, 李尚谕, 熊雄, 等. 微塑料对大型溞的急性毒性研究[J]. *水生生物学报*, 2021, 45(2): 292-298.

- LI Q, LI S Y, XIONG X, et al. Study on acute toxicity of microplastic to *Daphnia Magna* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2021, 45(2): 292-298. (in Chinese)
- [23] LI M Y, TANG T, YUAN F Y, et al. Protective effects of small heat shock proteins in *Daphnia Magna* against heavy metal exposure [J]. Science of the Total Environment, 2022, 848: 157565.
- [24] 万蕾, 朱伟, 赵联芳. 氮磷对微囊藻和栅藻生长及竞争的影响[J]. 环境科学, 2007, 28(6): 1230-1235.
WAN L, ZHU W, ZHAO L F. Effect of nitrogen and phosphorus on growth and competition of *M. aeruginosa* and *S. quadricauda* [J]. Environmental Science, 2007, 28(6): 1230-1235. (in Chinese)
- [25] MAO R F, LANG M F, YU X Q, et al. Aging mechanism of microplastics with UV irradiation and its effects on the adsorption of heavy metals [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 393: 122515.
- [26] ODA S, TATARAZAKO N, WATANABE H, et al. Production of male neonates in *Daphnia magna* (Cladocera, Crustacea) exposed to juvenile hormones and their analogs [J]. Chemosphere, 2005, 61(8): 1168-1174.
- [27] TKACZYK A, BOWNIK A, DUDKA J, et al. *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: A review [J]. Science of the Total Environment, 2021, 763: 143038.
- [28] 巩宁, 韩旭, 李佳璠, 等. 不同粒径聚乙烯微粒对大型溞的生物毒性效应[J]. 海洋环境科学, 2020, 39(2): 169-176.
GONG N, HAN X, LI J F, et al. Toxic effects of different particle size polyethylene microbeads on *Daphnia magna* [J]. Marine Environmental Science, 2020, 39(2): 169-176. (in Chinese)
- [29] SADLER D E, BRUNNER F S, PLAISTOW S J. Temperature and clone-dependent effects of microplastics on immunity and life history in *Daphnia magna* [J]. Environmental Pollution, 2019, 255: 113178.
- [30] RIST S, BAUN A, HARTMANN N B. Ingestion of micro- and nanoplastics in *Daphnia magna*-Quantification of body burdens and assessment of feeding rates and reproduction [J]. Environmental Pollution, 2017, 228: 398-407.
- [31] TROTTER B, WILDE M V, BREHM J, et al. Long-term exposure of *Daphnia magna* to polystyrene microplastic (PS-MP) leads to alterations of the proteome, morphology and life-history [J]. Science of the Total Environment, 2021, 795: 148822.
- [32] AN D, NA J, SONG J, et al. Size-dependent chronic toxicity of fragmented polyethylene microplastics to *Daphnia magna* [J]. Chemosphere, 2021, 271: 129591.
- [33] CASTRO-CASTELLON A T, HORTON A A, HUGHES J M R, et al. Ecotoxicity of microplastics to freshwater biota: Considering exposure and hazard across trophic levels [J]. Science of the Total Environment, 2022, 816: 151638.
- [34] VILAR M C P, SILVA FERRÃO-FILHO ADA, AZEVEDO S M F O. Single and mixed diets of the toxic Cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* and *Raphidiopsis raciborskii* differently affect *Daphnia* feeding behavior [J]. Food Webs, 2022, 32: e00245.
- [35] AKBAR S, HUANG J, ZHOU Q M, et al. Elevated temperature and toxic *Microcystis* reduce *Daphnia* fitness and modulate gut microbiota [J]. Environmental Pollution, 2021, 271: 116409.
- [36] HUANG J, LI Y R, ZHOU Q M, et al. Non-toxic and toxic *Microcystis aeruginosa* reduce the tolerance of *Daphnia pulex* to low calcium in different degrees: Based on the changes in the key life-history traits [J]. Chemosphere, 2020, 248: 126101.
- [37] LÜRLING M, VERSCHOOR A M. F₀-spectra of chlorophyll fluorescence for the determination of zooplankton grazing [J]. Hydrobiologia, 2003, 491(1): 145-157.
- [38] WRIGHT S L, ROWE D, THOMPSON R C, et al. Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms [J]. Current Biology, 2013, 23(23): R1031-R1033.
- [39] 方海燕, 谢冰寒, 侯淼淼, 等. PVC微塑料对大型溞繁殖及应激与能量相关基因表达的影响[J]. 环境科学学报, 2021, 41(5): 2056-2062.
FANG H Y, XIE B H, HOU M M, et al. Effect of PVC microplastic on reproduction and energy-related gene expression of *Daphnia magna* [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2021, 41(5): 2056-2062. (in Chinese)
- [40] 丁灿, 周其胤, 贺振洲, 等. 食藻虫联合高效菌剂处理富营养化水体[J]. 环境工程, 2019, 37(12): 109-112, 143.
DING C, ZHOU Q Y, HE Z Z, et al. Treatment of water eutrophication with *Daphnia Magna* and a new high-efficiency fungicide [J]. Environmental Engineering, 2019, 37(12): 109-112, 143. (in Chinese)
- [41] GEBREHIWOT M, KIFLE D, TRIEST L. Grazing and growth rate of a cyclopoid copepod fed with a phytoplankton diet constituted by a filamentous cyanobacterium [J]. Hydrobiologia, 2019, 828(1): 213-227.