

微塑料对大型的急性毒性研究

李勤 李尚谕 熊雄 张榜军 刘洋

STUDY ON ACUTE TOXICITY OF MICROPLASTIC TO *DAPHNIA MAGNA*

LI Qin, LI Shang-Yu, XIONG Xiong, ZHANG Bang-Jun, LIU Yang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2021.2019.180>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

氮浓度对铜绿微囊藻、大型和金鱼藻三者相互作用的影响

IMPACTS OF NITROGEN CONCENTRATION ON THE INTERACTIONS AMONG *MICROCYSTIS AERUGINOSA*, *DAPHNIA MAGNA* AND *CERATOPHYLLUM DEMERSUM*

水生生物学报. 2019, 43(2): 439–447 <https://doi.org/10.7541/2019.054>

镉对大型摄食能力和相关生理指标的影响

EFFECT OF CADMIUM ON THE FEEDING CAPACITY AND PHYSIOLOGICAL STATUS OF *DAPHNIA MAGNA*

水生生物学报. 2018, 42(3): 616–621 <https://doi.org/10.7541/2018.077>

氨氮对中华小长臂虾的急性毒性及非特异性免疫指标的影响

水生生物学报. 2017, 41(3): 516–522 <https://doi.org/10.7541/2017.66>

副溶血弧菌高效消毒剂的筛选及PHMG防治对虾AHPNS的应用研究

SCREEN OF DISINFECTANT AGAINST *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* AND THE APPLICABLE EVALUATION OF PHMG IN PREVENTING *LITOPENAEUS VANNAMEI* AHPNS

水生生物学报. 2020, 44(2): 252–260 <https://doi.org/10.7541/2020.030>

除草剂扑草净和阿特拉津对海草与大型藻类的毒性比较

COMPARISON OF THE HERBICIDE ATRAZINE AND PROMETRYN'S TOXICITY ON SEAGRASS AND SEAWEED

水生生物学报. 2017, 41(4): 930–934 <https://doi.org/10.7541/2017.116>

温度和铜绿微囊藻毒性对萼花臂尾轮虫生活史参数的影响

EFFECTS OF TEMPERATURES AND *MICROCYSTIS AERUGINOSA* TOXICITY ON LIFE-TABLE PARAMETERS OF *BRACHIONUS CALYCIFLORUS*

水生生物学报. 2020, 44(1): 206–212 <https://doi.org/10.7541/2020.024>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2021.2019.180

微塑料对大型溞的急性毒性研究

李勤¹ 李尚谕² 熊雄² 张榜军¹ 刘洋^{1,3}

(1. 河南师范大学生命科学学院, 新乡 453007; 2. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072;
3. 河南师范大学学报编辑部, 新乡 453007)

摘要: 为了解微塑料对淡水生态环境的影响, 选择了大型溞作为受试生物, 研究了聚氯乙烯(PVC)对其产生的急性毒性效应与恢复试验。研究设置了7个PVC浓度梯度, 范围是0—400 mg/L, 等比系数为2, 对其进行急性毒性处理, 测定96h LC_{50} , 并对大型溞心率变化和抗氧化指标进行测定。同时, 对其进行清水21d恢复实验。96h LC_{50} 为130.132 mg/L, 95%置信区间为82.864—234.989 mg/L。处理组与对照组相比, 高浓度组心率具有显著性差异($P<0.05$), 低浓度组无显著性差异($P>0.05$); 高浓度组摄食率具有极显著差异($P<0.01$), 低浓度组无显著性差异($P>0.05$); 高浓度组SOD、GSH值具有显著性差异($P<0.05$), 低浓度组并不显著($P>0.05$)。处理组与对照组相比, 处理组的生育力明显提高, 首次产幼时间提前, 但后代体长变短, 出现畸形个体; 处理组的后代死亡数高于对照组, 母溞体长缩短, 但并不显著。结果表明, PVC的暴露对大型溞具有一定的毒性效应, 短期暴露会对其后续生长和繁殖产生不利影响。

关键词: 微塑料; 大型溞; PVC; 急性毒性; 恢复试验

中图分类号: Q178.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2021)02-0292-07



微塑料是指粒径从几微米到几毫米、形状不一的塑料混合体的总称, 定义为小于5 mm的塑料, 其形状有碎片、纤维、颗粒和小球等多种, 分为初级塑料和次级塑料^[1]。近年来, 我国塑料制品的产值逐年增高, 主要组成成分为聚乙烯(PE)、聚丙烯(PP)、聚苯乙烯(PS)、聚氯乙烯(PVC)、聚乳酸(PLA)及聚对苯二甲酸乙二酯(PET)等聚合物^[2]。塑料制品在生产过程中往往会添加大量的阻燃剂、塑化剂等助剂, 部分PVC含有邻苯二甲酸酯(PAEs)。PAEs及其代谢产物属于环境内分泌干扰物, 对人体有生殖发育的影响、胚胎毒性和致癌毒性。如邻苯二甲酸丁苄酯(BBP)、邻苯二甲酸二己酯(DEHP)具有致癌性。PVC中含有氯化氢, 这些物质会随着聚氯乙烯的老化逐渐释放到环境中^[3,4]。有研究表明, 接触高浓度PVC中的氯乙烯单体的工人易患肝癌等病症; PVC中的氯乙烯可能导致人体先天缺陷、遗传变化、皮肤病和消化不良等^[5,6]。

研究表明, 多种藻类、贝类、鱼类及海洋哺乳类动物都直接或间接地受到微塑料的影响, 微塑料多变的形状和类型, 对海洋中不同的生物可产生不同的毒性作用^[7]。海洋微藻中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)经96h平均直径1 μ m微塑料暴露后, 其生长表现出抑制效应; 当浓度为50 mg/L时, 其叶绿素含量和光合效率显著降低^[8]。PVC浓度为250 mg/L, 淡水小球藻叶绿素a含量下降55.23%; 在此剂量下蛋白核小球(*Chlorella pyrenoidosa*)和水华微囊藻(*Microcystis flos-aquae*)的光合作用都受到抑制^[9]。纳米塑料阻碍小球藻和栅藻的光合作用, 可导致藻类ROS的产生^[10]。斑马鱼摄入聚苯乙烯颗粒(20—1000 nm粒径), 腮细胞的DNA有轻微的损伤; 而虹鳟的鳃因微塑料颗粒的附着出现免疫反应^[11,12]; 苯乙烯影响网纹蚤(*Ceriodaphnia dubia*)的繁殖率^[13]。微塑料在迁移过程中可能富集重金属和其他污染物, 对水生生物产生复合污染毒性, 进而对人类健

收稿日期: 2019-08-19; **修订日期:** 2020-10-16

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目(19A180018); 中科院藻类重点实验室开放课题(2018-001)资助 [Supported by the Key Scientific Research Projects of Henan Higher Education (19A180018); the Key Laboratory of Algal Biology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences (2018-001)]

作者简介: 李勤(1990—), 女, 硕士研究生; 主要研究方向为环境生物学。E-mail: lqin19@126.com

通信作者: 刘洋, E-mail: ly@htu.cn

康造成威胁^[14]。

目前微塑料的毒性和影响研究多集中在海洋领域,淡水领域报道较少。我国淡水水体比如太湖、武汉城市水体、珠江支流、上海城市河道、洞庭湖和洪湖等都检测到微塑料,其中微塑料丰度最高的是三峡水库(表层水),达 1.36×10^7 个/ km^2 ^[15]。微塑料对淡水生物的影响研究不容忽视,因此,本研究主要探讨微塑料对淡水生物的生长、繁殖及恢复后的影响效应。大型溞(*Daphnia magna*)属于节肢动物门、甲壳纲和枝角类,在淡水生态系统的物质循环和能量流动的环节中起到重要作用,由于其对毒物敏感性较高,被广泛用于化学产品的毒性评价、水污染的检测及制定各种水质标准实验^[16]。本实验通过研究微塑料(800目的PVC)暴露后对大型溞的急性毒性、生长、繁殖及清水恢复实验,为微塑料(PVC)短期对淡水生物(大型溞)的影响提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

大型溞和小球藻(*Chlorella vulgaris*)来自中国科学院水生生物研究所。大型溞养殖在直径为20 cm的圆形透明的玻璃缸中,置于光暗比(L:D)16:8的光照培养箱中,光照强度为3000 lx,温度为 $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$,每天上午10点喂食小球藻,用曝气2d以上的自来水培养。毒性试验前24h挑选怀卵的生命力强的母溞单独培养,其敏感度测定符合国际标准。选用800目(15 μm)的PVC,购自东莞市静天塑胶原料有限公司。

1.2 幼溞的急性毒性

参考OECD^[17]等方法,根据预实验,将经过超声波水浴40min的400 mg/L的PVC悬浮液,依次稀释0、12.5、25、50、100、200和400 mg/L的梯度,记为CK、A、B、C、D、E、F组。设置4个重复,每个烧杯中放入5只6—24h经过饥饿处理的幼溞,在24h、48h、72h和96h记录幼溞的死亡率。实验过程中不喂食,不换液。

1.3 心率测定

经过96h的急性毒性处理,使用体式显微镜(SZ61,奥林巴斯,日本)对每组随机选择2只的大型溞进行60s左右的录像,然后使用计数器对录像结果进行大型溞跳动次数的计数,每个视频计数3次,计算结果换算成“次/min”^[18,19]。

1.4 摄食率测定

参考贾静^[20]方法,96h的急性毒性处理后,将其转到含有小球藻的培养液中,利用血球计数板计数

的方法测定小球藻密度。小球藻初始密度为 5×10^5 cells/mL,黑暗下静态放置培养箱5h后计数小球藻的密度。参考罗艳蕊等^[21]方法,计算摄食率(I):

$$A = \frac{\ln C_0 - \ln C_t}{t}$$
$$I = \sqrt{C_0 C_t}$$

式中, I 为摄食率,平均每个大型溞单位时间内摄取的藻细胞数量,单位为cells/h; C_0 为藻液的初始密度,单位为cells/mL; C_t 为藻液的最终密度,单位为cells/mL; t 为时间,单位为h; A 为校正因子。

1.5 酶活测定

参考张楠等^[22]方法,将6—24h幼溞置于不同浓度组(0、25、50、100和200 mg/L)处理96h。试验期间不喂食,不换试验用液。96h后将大型溞滤出,同时弃去死亡个体。用86%的生理盐水,冲洗3次,在滤纸上吸干水分后称重,将大型溞以1 g:9 mL的比例添加86%的生理盐水,置冰中用匀浆器匀浆,匀浆多次。匀浆之后以10000 r/min 4°C 下离心10 min,收集上清液,分装后 -80°C 冰箱保存备用。采用试剂盒法(南京建成生物工程研究所)测SOD(超氧化物歧化酶)活性、GSH(谷胱甘肽过氧化物酶)活性、组织中蛋白质含量。

1.6 恢复试验

在96h急性毒性处理后,将其转入含有藻液(小球藻)的50 mL烧杯中。每个烧杯中放1只溞,每天加定量的藻液,每隔1天换1次水,每天记录脱壳数、死亡数、产幼溞情况。测量首次产幼溞体长及21d母溞体长。

1.7 PVC排出试验

96h急性毒性处理后,将其转入清水中。在显微镜下0、1h、4h和16h拍照,观察其清水排出PVC的过程。

1.8 数据处理

Excel进行数据整理和绘图,SPSS17.0进行概率单位(Probit)回归分析和单因素方差分析(One-way ANOVA);当方差不具有齐性时,选择未假定方差齐性的Tamhane's T2和Dunnett's T3(3)检验。数据结果用平均值 $\pm$ 标准差表示, $P < 0.05$ 为显著性差异, $P < 0.01$ 表示极显著性差异。

2 结果

2.1 PVC对大型溞的急性毒性及其心率和摄食率的影响

96h LC_{50} 值为130.132 mg/L,95%置信区间为82.864—234.989 mg/L。通过观察,大型溞在24—

48h时死亡率较低; 72—96h毒性上升。当浓度为400 mg/L时, 在96h幼蚤全部死亡。

在图1中96h时, 大型蚤的心率随着浓度的增加而下降。当处理组浓度为50、100和200 mg/L时, 与对照组相比有显著性差异($P<0.05$); 但低浓度组(12.5和25 mg/L)与对照组相比, 心率无显著性差异($P>0.05$)。当处理组为200 mg/L, 大型蚤心率最低。这说明PVC浓度越大, 对其心率影响越大。

在图2中, 大型蚤的摄食率与对照组相比, 均低于对照组。当处理组浓度为12.5 mg/L时, 处理组与对照组的摄食率无明显差异($P>0.05$)。当处理组浓度为200 mg/L时, 摄食率最小为 $(1.236 \times 10^4 \pm 0.101)$ cells/(ind.·h), 与对照组的摄食率 $(1.772 \times 10^4 \pm 0.040)$ cells/(ind.·h)相比, 具有极显著性差异($P<0.01$)。

2.2 PVC对大型蚤抗氧化酶的影响

在图3a中, 当处理组浓度为200 mg/L时, 蛋白含量最低为 $(0.228 \times 10^3 \pm 0.080)$ mg/L; 处理组浓度为100和200 mg/L时, 与对照组相比具有显著性差异($P<0.05$); 其他处理组与对照组相比, 没有明显的差

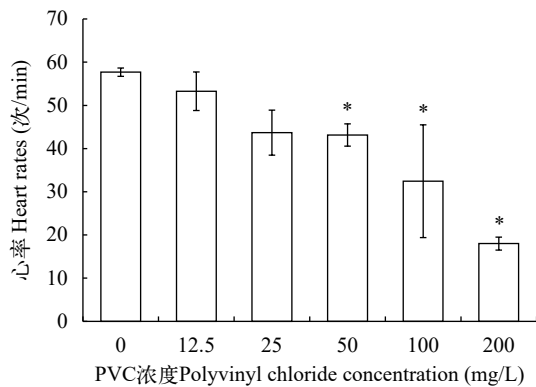


图1 PVC对大型蚤96h心率的影响 (*代表 $P<0.05$, 下同)

Fig. 1 Effect of PVC on heart rates of *D. magna* (*means $P<0.05$, the same applied below)

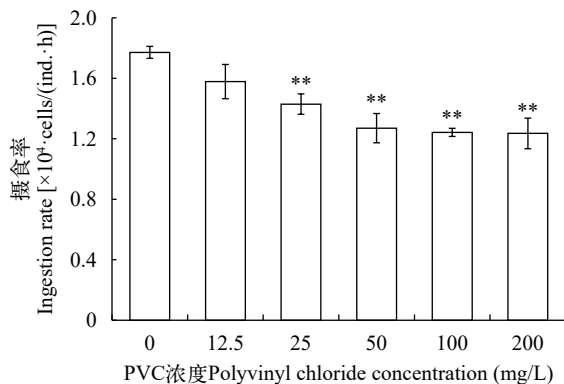


图2 PVC对大型蚤摄食率的影响 (**代表 $P<0.01$)

Fig. 2 Effect of PVC ingestion rate on *D. magna* (**means $P<0.01$)

异($P>0.05$)。图3b中处理组中的GSH含量与对照组相比呈升高的趋势; 处理组除了浓度为200 mg/L时, 与对照组相比有显著性差异($P<0.05$), 其余各组均无显著性差异($P>0.05$)。图3c中处理组的SOD的活力与对照组相比, 基本随浓度的增加而升高; 处理组只有浓度为200 mg/L时, 与对照组相比具有显著性差异($P<0.05$), 其他均不具有显著性差异($P>0.05$)。这说明大型蚤经过处理后, 体内酶发生相应变化, 出现氧化应激。

2.3 PVC对大型蚤后续生长繁殖的影响

表1中的处理组比对照组的首次产生蚤时间早; 总产幼蚤数多, 但处理组(除了E组)的幼蚤死亡数

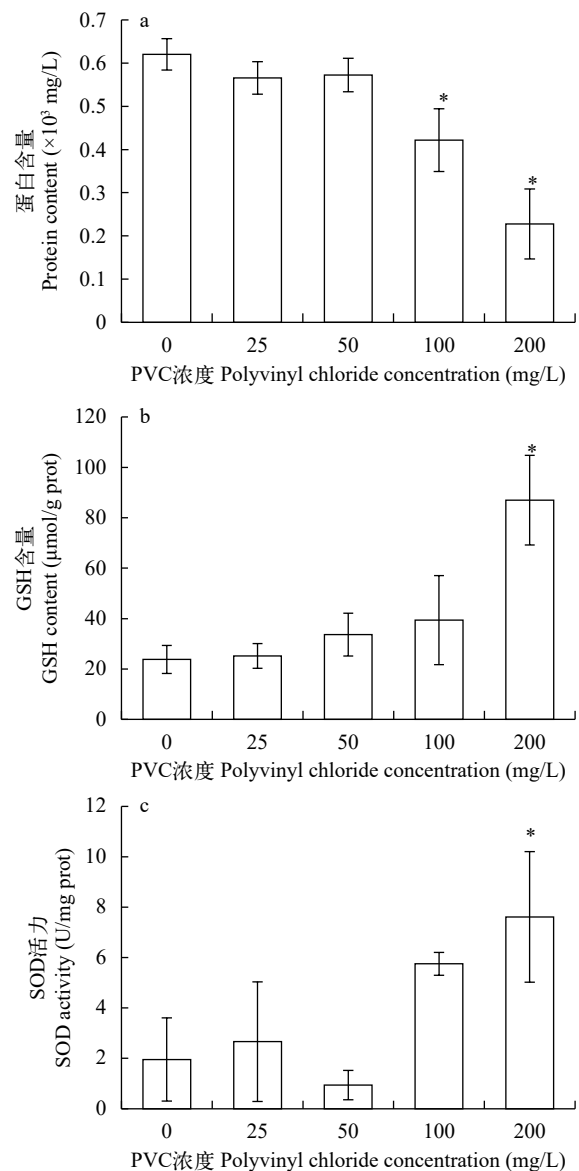


图3 PVC对大型蚤蛋白含量(a)、GSH含量(b)和SOD活力(c)的影响

Fig. 3 Effect of PVC on protein content (a), GSH content (b) and SOD activity (c) of *D. magna* (the same applied above)

都高于对照组,表2的处理组首次产幼溞体长均比对照组短,而且部分子代有畸形;处理组的21d母溞体长也比对照组短。

2.4 大型溞在不同时间排出PVC的情况

图4中的处理组随着在清水中恢复的时间延长,大型溞的肠道逐渐干净,但到16h仍未全部排出。所有组清洗后转入清水中进行拍照观察,所有处理组变化趋势一致。E组在0时,肠道都是白色;1h时,大型溞周围有白色絮状物,附肢上较多;4h时,液体中有白色聚集体;16h时,大型溞的肠道内容物减少,液体中有较多的白色聚集体。

3 讨论

3.1 PVC对大型溞心率和摄食行为的影响

本文的急性毒性终点时间是96h,Rehse等^[23]提出大型溞在1 μm不同浓度的PE暴露下,24—72h的大型溞活动抑制结果低于96h的结果。机体对污染物早期的应激反应包括心率的变化,本研究对心率进行了测定,处理组的心率比对照组低,表明暴露于PVC环境中的大型溞心率受到了影响。本研究心率数据比已有研究报道的心率低的原因可能是幼溞在试验前进行了饥饿处理^[19]。

摄食行为是水生动物的一项基本行为,可以直观地反映外界环境对其机体的影响^[18]。Rist等^[24]证明了大型溞暴露100 nm的塑料颗粒中,摄食率下降

21%。Ogonowski等^[25]提出了大型溞因MPs的存在,摄食率下降30%。还有研究表明大型溞暴露PE中0.5h、1h和1.5h,暴露组的摄食率与对照组的差异越来越小^[20]。本研究结果表明,大型溞在高浓度组PVC(25—200 mg/L)暴露96h时,摄食率显著受到抑制。PVC处理后的大型溞的摄食率下降,可能是其在肠道内形成不规则的聚集体,使肠道受到一定机械损伤^[25],与鱼类摄入MPs阻塞消化道类似,导致物理和机械损伤。MPs堵塞肠道和破坏肠道在动物的摄食和消化行为中较为常见的^[26, 27]。肠道中的微塑料可能诱导虚假的饱食感导致食物摄入量减少,减少对微藻细胞的吸收和能量的摄入^[28]。大型溞在饥饿的状态下,对食物无选择性^[29],研究也发现处理组中的大型溞摄食PVC填满肠道,经过96h的短期暴露,依旧影响大型溞在无PVC环境的摄食,说明短期内(5h)无法改变PVC对大型溞摄食率的影响。

3.2 PVC对大型溞SOD和GSH的影响

生物体内抗氧化防御系统中重要的酶类包括SOD、过氧化氢酶(CAT)和GSH,在应对外界损伤中起关键作用。SOD可以将O₂⁻转化成H₂O₂和O₂,减少体内的氧自由基,阻止机体和细胞的氧化;CAT催化H₂O₂生成H₂O和O₂,清除体内的过氧化氢;GSH催化过氧化物还原^[30]。大型溞经过96h处理后,SOD和GSH都有不同程度的变化,说明PVC处理后

表1 21d大型溞恢复状态的繁殖参数

Tab. 1 Reproductive parameters of 21d *D. magna* in restored state

组别 Group	首产幼溞时间First reproduction time (d)	首次产幼溞数First brood number (ind.)	幼溞死亡数Number of offspring deaths (ind.)	总胎数Number of brood per female	总产幼溞量Number of total offspring per female (ind.)
CK	13.80±4.27	5.25±3.30	1.50±0.71	1.60±0.89	12.50±4.51
A	11.40±4.34	9.00±2.31	4.60±2.97	3.20±2.17	25.50±3.54
B	8.80±1.30	5.75±3.30*	4.40±1.95	2.25±1.26	25.00±1.41
C	10.14±2.34	6.00±1.00	4.40±1.82	2.43±1.62	15.50±2.65
D	9.83±2.32	4.25±2.63	5.00±2.00	3.00±1.67	19.00±4.24
E	7.00	13.00	0.00	1.00	13.00

表2 21d大型溞恢复状态的生长参数

Tab. 2 Growth parameters of 21d *D. magna* in restored state

组别 Group total	21d母溞体长Body length of per female at 21 days (mm)	首产幼溞体长Body length of first offspring (mm)	母溞脱壳数Number of per female moltion	母溞死亡总数Number of female death (ind.)
CK	3.11±0.18	1.87±0.66	7.80±3.35	5
A	3.01±0.23	1.85±0.59	6.50±2.12	5
B	2.98±0.28	1.30±0.06	6.67±2.58	6
C	3.05±0.09	1.50±0.37	8.40±0.89	3
D	3.00±0.27	1.50±0.35	7.57±1.72	3
E	\	1.29	11	9

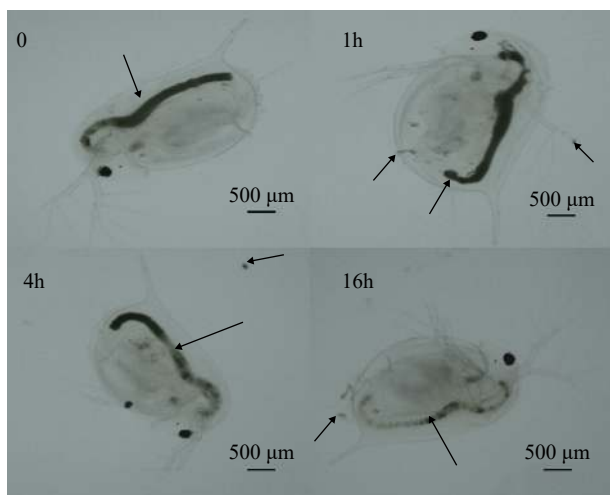


图4 E组大型溞在不同时间排出PVC的情况

Fig. 4 The excretion of PVC from *D. magna* on E group at different times

干扰了机体抗氧化防御系统稳态。当面对环境中PVC的胁迫时,大型溞启动抗氧化应激系统,抵御不良环境,从而维持自身抵抗外部环境改变的能力。

3.3 PVC对大型溞繁殖的影响

水生生物摄入微塑料,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率^[31]。处理组的子代数比对照组的多,处理组子代体长及母溞体长均比对照组短,子代有畸形,表明短期的PVC暴露对大型溞后续的生长繁殖有不利影响。这与鱼类摄入MP后,影响其繁殖的观点一致^[27, 30]。而部分研究发现大型溞暴露于63—75 μm的聚苯乙烯荧光颗粒中,对其生存和繁殖没有显著影响^[32]。这可能是微塑料材质和大小不同,对大型溞的毒性不同。本实验经过96h处理,再进行21d的有藻恢复,母溞仍存在死亡现象,与大型溞暴露于PET(长62—1400 μm,宽31—528 μm,厚1—21.5 μm)48h后,再进行24h无MPs有藻的培养基恢复实验,结果较为类似^[27]。可能是微塑料对大型溞的损伤在一定时间内不可恢复。本实验观察到了幼溞出现尾刺弯曲和幼溞体长缩短的现象,表明PVC暴露影响子代的形态发育。已有研究表明在Nano-PS暴露的大型溞表现出体型缩小和体重减轻的现象,幼溞数量较少,幼溞的畸形率上升至68%,第二刚毛不完全发育和尾刺弯曲^[33],这些表明微塑料潜在地导致了大型溞子代畸形。在本试验进行16h后,大型溞肠道内容物仍未排除干净。本研究结果与Rist等^[24]关于大型溞摄食聚苯乙烯荧光颗粒(24h)结果较为一致。大型溞摄食微塑料后短时间内较难排净,

这可能是由于大型溞肠道摄食动态平衡及清水恢复时间有关^[20, 25],而这部分研究仍需要进一步验证。大型溞暴露96h后进行有藻恢复,对子代仍会造成影响,而究竟第几代才能消除微塑料的影响,这部分研究还未见报道,有待进一步研究。

4 结论

PVC暴露对大型溞的96h LC_{50} 值为130.132 mg/L, 95%置信区间为82.864—234.989 mg/L。PVC高浓度处理组大型溞的摄食率与对照组有极显著性差异($P < 0.01$),低浓度组却无显著性影响($P > 0.05$)。暴露PVC后的大型溞比对照组心率低, PVC对大型溞心率有一定的影响。大型溞在16h内不能将肠道内的PVC全部排出。短期的PVC暴露影响大型溞的子代数及子代的形态发育,这种影响需要大型溞长期的无暴露物的恢复。

致谢:

感谢中国科学院水生生物研究所的侯淼淼在实验中给予的帮助,感谢河南师范大学的刘夏楠、黄莉晓和党步云对实验的参与和帮助。

参考文献:

- [1] Long Z X, Yu X G, Jin X G, *et al.* Research progress and problems of marine microplastic pollution [J]. *Journal of Applied Oceanography*, 2017, **36**(4): 2095-4972. [龙邹霞, 余兴光, 金翔龙, 等. 海洋微塑料污染研究进展和问题 [J]. *应用海洋学学报*, 2017, **36**(4): 2095-4972.]
- [2] Yang J J, Xu L, Lu A X, *et al.* Research progress in the source and toxicology of micro (nano) plastics in the environment [J]. *Environmental Chemistry*, 2018, **3**(3): 383-396. [杨婧婧, 徐笠, 陆安祥, 等. 环境中微(纳米)塑料的来源及毒理学研究进展 [J]. *环境化学*, 2018, **3**(3): 383-396.]
- [3] Zhang K, Sun H W. (Degradable) Adsorption of organic pollutants by microplastic particles and its effects on bioavailability [J]. *Environmental Chemistry*, 2018, **37**(3): 375-382. [张凯, 孙红文. (可降解)微塑料颗粒吸附有机污染物及对其生物有效性的影响 [J]. *环境化学*, 2018, **37**(3): 375-382.]
- [4] Nordensvan I, Dave G. Comparative acute toxicity of leachates from plastic products made of polypropylene, polyethylene, PVC, acrylonitrile-butadiene-styrene, and epoxy to *Daphnia magna* [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2012(19): 1763-1772.
- [5] Yang Y M, Liu Y Q. Discussion on the toxicity measurement of PVC resin [J]. *Analysis and Testing*, 2000(6): 54-58. [杨永梅, 刘玉琴. 浅谈PVC树脂的毒性衡量 [J]. *分析与测试*, 2000(6): 54-58.]

- [6] Zhang S M, Zha J, Meng W, *et al.* Microplastics in the environment and their effects on human health [J]. *China Plastics*, 2019, **33**(4): 81-87. [张思梦, 查金, 孟伟, 等. 环境中的微塑料及其对人体健康的影响 [J]. 中国塑料, 2019, **33**(4): 81-87.]
- [7] Li F Y, Jia F L, Hai F, *et al.* Environmental behavior and ecological impact of micro-plastics in the ocean [J]. *Journal of Ecotoxicology*, 2017, **12**(6): 11-18. [李富云, 贾芳丽, 海峰, 等. 海洋中微塑料的环境行为和生态影响 [J]. 生态毒理学报, 2017, **12**(6): 11-18.]
- [8] Zhang C, Chen X H, Wang J T, *et al.* Toxic effects of microplastic on marine microalgae *Skeletonema costatum*: Interactions between microplastic and algae [J]. *Environmental Pollution*, 2017(220): 1282-1288.
- [9] Wu Y M, Guo P Y, Zhang X Y, *et al.* Effect of microplastics exposure on the photosynthesis system of freshwater algae [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019(19): 1-35.
- [10] Bhattacharya P, Lin S J, James P, *et al.* Physical adsorption of charged plastic nanoparticles affects algal photosynthesis [J]. *Journal of Physical Chemistry C*, 2010(114): 16556-16561.
- [11] Cai Y Y, Zhao J W, Li W F, *et al.* Effects of different particle size plastic microparticles on zebrafish gill tissue and its effects on sputum toxicity [J]. *Journal of Applied and Environmental Biology*, 2017, **23**(6): 1154-1158. [蔡亚云, 赵佳玥, 李文锋, 等. 不同粒径塑料微颗粒在斑马鱼腮组织中的积累及其对鳃毒性的影响 [J]. 应用与环境生物学报, 2017, **23**(6): 1154-1158.]
- [12] Cao L, Li Y, Liang R F, *et al.* Effects of microplastic particles on the expression of immune gene in rainbow trout [J]. *Acta Scientia Sinica*, 2018, **38**(8): 3347-3352. [曹露, 李永, 梁瑞峰, 等. 微塑料颗粒对虹鳟免疫基因表达的影响 [J]. 环境科学学报, 2018, **38**(8): 3347-3352.]
- [13] Iguchi T, Watanabe H, Katsu Y. Application of ecotoxicogenomics for studying endocrine disruption in vertebrates and invertebrates [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2006(114): 101-105.
- [14] Han J. The problem of micro-plastic pollution in China needs to be solved urgently [J]. *Scientific and Technological Innovation*, 2018(23): 186-187. [韩佳. 我国微塑料污染问题亟待解决 [J]. 科学技术创新, 2018(23): 186-187.]
- [15] Wu C X, Pan X L, Shi H H, *et al.* Micro-plastic pollution and watershed management and control strategies in freshwater environment in China [J]. *Proceedings of the Chinese Academy of Sciences*, 2018, **33**(10): 16-24. [吴晨曦, 潘响亮, 施华宏, 等. 我国淡水环境微塑料污染与流域管控策略 [J]. 中国科学院院刊, 2018, **33**(10): 16-24.]
- [16] Liu J M, Liu J N, Chen Y W, *et al.* Acute and chronic toxicity of tetrabromobisphenol A and tribromophenol on *Daphnia magna* [J]. *Journal of Environmental Science*, 2018, **35**(6): 1946-1954. [刘建梅, 刘济宁, 陈英文, 等. 四溴双酚A和三溴苯酚对大型溞急性和慢性毒性 [J]. 环境科学报, 2018, **35**(6): 1946-1954.]
- [17] OECD. Test No. 211: *Daphnia magna* Reproduction Test [S]. Paris, OECD Publishing, 2008.
- [18] Cai Q J, He W H, Peng Z R, *et al.* Effects of pH and salinity on heart rate and feeding behavior of *Daphnia magna* [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2017, **26**(3): 415-421. [蔡清洁, 何文辉, 彭自然, 等. pH和盐度对大型溞心率和摄食行为的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2017, **26**(3): 415-421.]
- [19] 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. [王茜, 郭鹤飞, 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.]
- [20] Jia J. Study on the enrichment and toxic effects of microplastics in aquatic food chain [D]. Dalian: Dalian Maritime University, 2018: 1-69. [贾静. 微塑料在水生食物链中的富集及毒性效应研究 [D]. 大连: 大连海事大学, 2018: 1-69.]
- [21] Luo Y R, Li X Y, Huang P P, *et al.* Effects of ionic liquids with different carbon chain lengths on feeding behavior of *Daphnia magna* [J]. *Journal of Applied and Environmental Biology*, 2008, **14**(3): 383-387. [罗艳蕊, 李效宇, 皇培培, 等. 不同碳链长度的离子液体对大型溞摄食行为的影响 [J]. 应用与环境生物学报, 2008, **14**(3): 383-387.]
- [22] Zhang N, Zhang Q J, Jia C X, *et al.* Effects of heavy metals on the activities of SOD, CAT and GSH in *Daphnia magna* [J]. *Journal of Southwest University (Natural Science)*, 2017, **39**(1): 69-75. [张楠, 张清靖, 贾成霞, 等. 重金属锌对大型溞SOD、CAT酶活性和GSH含量的影响 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2017, **39**(1): 69-75.]
- [23] Rehse S, Werner K, Christiane Z. Short-term exposure with high concentrations of pristine microplastic particles leads to immobilisation of *Daphnia magna* [J]. *Chemosphere*, 2016(153): 91-99.
- [24] Rist S, Baun A, Nanna B, *et al.* 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.
- [25] Ogonowski M, Schür C, Åsa Jarsén, *et al.* The effects of natural and anthropogenic microparticles on individual fitness in *Daphnia magna* [J]. *PLoS One*, 2016, **11**(5): 155-163.
- [26] Jemec A, Horvat P, Kunej U, *et al.* Uptake and effects of microplastic textile fibers on freshwater crustacean *Daphnia magna* [J]. *Environmental Pollution*, 2016(219): 201-209.
- [27] Hankins C, Duffya A, Driscob K. Scleractinian coral microplastic ingestion: Potential calcification effects, size limits, and retention [J]. *Marine Pollution Bulletin*,

- 2018(135): 587-593.
- [28] Martins A, Guilhermino L. Transgenerational effects and recovery of microplastics exposure in model populations of the freshwater cladoceran *Daphnia magna* Straus [J]. *Science of the Total Environment*, 2018(631-632): 421-428.
- [29] Liu W, Du B B, Liu G, *et al.* Effects of starvation time on feeding behavior of *Daphnia magna* [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2014, 29(6): 582-587. [刘玮, 杜蓓蓓, 刘钢, 等. 饥饿时间对大型溞摄食行为的影响 [J]. *大连海洋大学学报*, 2014, 29(6): 582-587.]
- [30] Xia S J. Molecular Toxicology [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2017: 87-88. [夏世钧. 分子毒理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2017: 87-88.]
- [31] Li Z H. Effects of microplastics intake on metabolism, liver function and reproductive system related parameters in rats with high fat diet [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018: 1-61. [李子豪. 微塑料摄入对高脂饮食大鼠代谢、肝功能及生殖系统相关参数的影响 [D]. 杭州: 浙江大学, 2018: 1-61.]
- [32] Patrick M, Canniff, Tham C, *et al.* Microplastic ingestion by *Daphnia magna* and its enhancement on algal growth [J]. *Science of the Total Environment*, 2018(633): 500-507.
- [33] Besseling E, Wang B, Lüring M, *et al.* Nanoplastic affects growth of *S. obliquus* and reproduction of *D. magna* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(23): 12336-12343.

STUDY ON ACUTE TOXICITY OF MICROPLASTIC TO *DAPHNIA MAGNA*

LI Qin¹, LI Shang-Yu², XIONG Xiong², ZHANG Bang-Jun¹ and LIU Yang^{1,3}

(1. College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China; 2. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 3. Journal of Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: In order to understand the impact of microplastics on the ecological environment of freshwater, we choose *Daphnia magna* as test organisms and studied the acute toxicity of PVC and recovery test of PVC. Seven groups of PVC concentration gradient and four repetition groups were set up. The range was 0—400 mg/L and the equivalence coefficient was 2. After 96h acute toxic exposure, the LC_{50} , heart rate and antioxidant index were determined. The recovery experiment without PVC for 21 days was also conducted. The 96-hour LC_{50} was 130.132 mg/L, and the 95% confidence interval from 82.864 to 234.989 mg/L. Compared with the control group, the heart rate of the high concentration groups (50—200 mg/L) were significantly different ($P < 0.05$), while the low concentration group had no significant difference ($P > 0.05$); the ingestion rate of the high concentration groups (25—200 mg/L) had a significant difference ($P < 0.01$), and the low concentration group had no significant difference ($P > 0.05$); the SOD and GSH values of the high concentration group (200 mg/L) had significant differences ($P < 0.05$), but the low concentration group had no significant difference ($P > 0.05$). The first reproduction time was advanced, but the body length of the offspring became shorter and deformed. The number of deaths in the offspring of the treatment group was higher than that of the control group. The body length of the female was shortened than the control group. These results showed that *D. magna* exposed to PVC caused itself toxic injury, and short-term exposure would lead to adverse effects on the growth and reproduction of *D. magna*.

Key words: Microplastics; *Daphnia magna*; PVC; Acute toxicity; Recovery test