

doi:10.3969/j.issn.1001-4616.2026.01.014

聚乙烯颗粒对三氯生在蚯蚓体内富集的影响 及其复合污染的毒性效应

沈海欣,冯永雪,马丽丽

(南京师范大学环境学院,江苏 南京 210023)

[摘要] 微塑料(microplastics,MPs)易吸附污染物,改变污染物的生物富集、分布和毒性效应,但其复合暴露对土壤生物的毒性研究却较为薄弱.本文选用赤子爱胜蚓作为受试生物,以个体、亚机体、亚细胞、组织水平上的毒性指标研究不同粒径(30目和100目)和浓度(0.2%和2%)的聚乙烯(polyethylene,PE)颗粒对三氯生(triclosan,TCS)在蚯蚓体内富集分布的特征,及其复合胁迫对蚯蚓毒性效应的影响.研究表明,PE降低了蚯蚓体内TCS的富集量;TCS在蚯蚓亚机体水平的富集量呈现为生殖环带>环带前部>环带后部,在亚细胞水平的富集量呈现为胞外组分>胞内组分,在组织水平的富集量呈现为肠道>表皮的特征;PE介导下,环带前部、胞外组分、肠道TCS的富集量显著降低.100目PE和TCS两类单一暴露组,诱导SOD、MDA、8-OHdG增加以应对抗氧化胁迫,诱导 K^+Na^+ -ATP酶、 Ca^{2+} -ATP酶升高以维持细胞内外离子平衡,且TCS诱导效应强于PE.相对TCS单一暴露组,PE-TCS复合暴露组未显著增强蚯蚓氧化胁迫相关酶(SOD、CAT).其中,100目PE-TCS复合暴露组8-OHdG显著被诱导,AKP、 K^+Na^+ -ATP、 Ca^{2+} -ATP显著被抑制.这表明100目MPs在TCS损伤细胞DNA、干扰细胞内外的离子平衡方面均有加重效应.研究可为评价MPs对土壤有机污染物生态风险的潜在影响提供科学依据.

[关键词] 微塑料,三氯生,蚯蚓,富集分布,酶活性

[中图分类号]X53 [文献标志码]A [文章编号]1001-4616(2026)01-0135-09

Effect of Polyethylene Microplastics on the Bioaccumulation and Toxicity of Triclosan in Earthworms

Shen Haixin, Feng Yongxue, Ma Lili

(College of Environment, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

Abstract: Microplastics (MPs) can absorb various pollutants and alter the biological accumulation, distribution, and toxic effects of other pollutants. Nevertheless, few studies have focused on these combined effects on soil organisms. In this paper, *Eisenia foetida* was used to evaluate the effect of polyethylene (PE) particles of varying sizes (mesh numbers 30 and 100) and concentrations (0.2% and 2%) on the triclosan (TCS) accumulation and distribution in earthworms at individual, sub-organism, subcellular, and tissue levels. Furthermore, the combined toxic effects on earthworms were investigated. The results revealed that PE particles reduced the accumulation of TCS in earthworms—i.e., the higher the PE concentration and the greater the amount of PE in the soil, the lower the accumulation of TCS in earthworms. The TCS distribution at the sub-organism level was clitellum>pre-clitellum>post-clitellum, while it was extracellular>intracellular at the subcellular level and intestinal>epidermis at the tissue level. PE particles significantly decreased the TCS distribution in the pre-clitellum, extracellular, and intestinal regions. Superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), and 8-hydroxydeoxyguanosine monophosphate (8-OHdG) production were induced to resist antioxidant stress caused by the increase in the PE amount and TCS exposure in earthworms. K^+Na^+ -ATP and Ca^{2+} -ATP enzymes exhibited comparable characteristics, thus maintaining ion balance in and out of cells. The induction effect of the TCS exposure group was stronger than that of the PE particles groups. Overall, compared with TCS treatments alone, the combined exposure to PE (ingested and uningested PE particles) and TCS did not enhance oxidative stress-related enzymes.

收稿日期:2025-04-22.

基金项目:国家自然科学基金项目(41603114)、江苏省科技厅自然科学基金项目(BK20161017).

通讯作者:马丽丽,博士,高级实验师,研究方向:污染物的环境行为与毒理学效应. E-mail:09398@njnu.edu.cn

However, the ingested PE particles induced the 8-OHdG index and inhibited the AKP, K^+Na^+ -ATP, and Ca^{2+} -ATP enzyme indices, suggesting that PE increased the effect of DNA damage induced by TCS on earthworms and attenuated the interference of TCS with ion balance in and out of cells in earthworms. These results provide a scientific basis for understanding the impact of microplastics on the ecological risk posed by soil organic pollutants.

Key words: microplastics, triclosan, earthworm, accumulation and distribution, enzyme activity

微塑料(microplastics, MPs)是指人工合成或降解生成、粒径 $<5\text{mm}$ 的塑料颗粒,具有粒径小、比表面积大、强疏水性、耐腐蚀和难降解的特性^[1]. MPs 进入环境介质后,易吸附重金属和有机污染物,且被环境中的生物吞食^[1]. 随着塑料制品的广泛使用,在全球范围内的土壤中均有以聚丙烯(PP)、聚乙烯(PE)、聚苯乙烯(PS)、聚氯乙烯(PVC)为主的 MPs 被检出. 它们以薄膜、碎片、微珠和纤维形态为主,丰度甚至高达 42 960 个/kg,粒径范围集中在 0.05~1 mm,最小粒径甚至低至 20 μm ^[2-3].

作为一种典型的药品和个人护理用品(pharmaceutical and personal care products, PPCPs),三氯生(triclosan, TCS)被广泛添加于医疗用品、纺织品和个人护理品、各种聚合物和纤维产品等. 随着 TCS 的大量使用, TCS 也通过多种途径进入到土壤中. 由于 TCS 易被土壤中的生物吸收,通过食物链传递可对人体健康产生潜在危害^[4]. 目前,有关 MPs、TCS 对土壤生物的研究成果丰硕,较多关注于单一污染的毒性,而 MPs 介导的复合毒性研究主要偏重于重金属、PAHs、PCBs 和农药^[5-6],而 MPs 吸附 TCS 对土壤生物的复合毒性未见报道.

蚯蚓,作为土壤中最大的无脊椎动物,不仅与土壤各种污染物接触密切、对不同类型污染物高度敏感,而且是陆生生物与土壤生物间污染物传递的桥梁,可为陆地生态系统风险评估提供参考^[7]. 因此,本文以赤子爱胜蚓作为模式生物,以 PE 和 TCS 作为目标污染物,探究 PE 对 TCS 在蚯蚓体内富集的影响,及其复合暴露对蚯蚓体内各种酶活性的影响. 研究结果为农田土壤 MPs 复合污染的环境行为和生态风险评估提供依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验蚯蚓:赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)购置于江苏省句容蚯蚓生态养殖基地. 试验前在自然土壤中驯养 2 周,驯养过程中蚯蚓仅食用土壤,然后选择体重在 350~450 mg、环带明显、大小相近的成蚓进行试验.

试验试剂:TCS,分析纯,纯度 $\geq 99\%$ (百灵威科技有限公司,北京);微塑料 PE 颗粒:30 目、100 目(华创塑化公司,东莞);丙酮和正己烷,色谱纯(晚晴试剂公司,南京);各种酶活性的试剂盒(南京建成生物工程研究所,南京).

1.2 试验设计

暴露试验采用自然土壤法,采自吉林省辽源市东丰县,其土壤类型为泥炭土,基本理化性状如表 1 所示. 考虑到实际田间 MPs 的可能粒径和浓度,试验选用两种粒径^[8-9](30 目和 100 目)和两种浓度^[10-11](0.2%和 2%)的 PE,即分别为 30 目+0.2%PE、30 目+2.0%PE、100 目+0.2%PE、100 目+2.0%PE,浓度为 100 mg/kg 的 TCS 设计正交试验,试验处理分别为无 PE、30 目+0.2%、30 目+2.0%、100 目+0.2%、100 目+2.0%,共计 10 个处理,每个处理 3 个平行. 首先,将对应浓度的 TCS 溶于丙酮,加入到 750 g 干土中充分混匀,置于通风橱中稳定 24 h,使丙酮挥发. 准确称量不同粒径 PE 加入干土中再次充分搅拌均匀,加入 155 mL 蒸馏水再次混匀,使土壤含水量达到田间最大持水量的 60%,挑取 15 只平均体重在 0.35~0.45 g 清肠后的蚯蚓放入各 2 L 烧杯中,用保鲜膜封口并用牙签扎数个孔保证通气,置于温度(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$, 12 h:12 h=光照:黑暗,湿度 70%的培养箱中暴露. 在暴露 14 d 时采样,挑选出蚯蚓,用蒸馏水冲洗干净,放于湿润滤纸上于(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中过夜清肠后,用于试验分析.

表 1 土壤的基本理化性状

Table 1 Basic physical and chemical properties of soil

pH	有机质%	全氮/(g/kg)	全钾/(mg/kg)	全磷/(mg/kg)	水溶性盐总量/(g/kg)
5	17.7	13.2	10.6	0.266	2.18

1.3 样品分析与测定

样品的分组处理^[12]:亚机体水平为3条蚯蚓用液氮冷冻后,软化前迅速用刀片切割为环带前部、生殖环带和环带后部,称重后加入3g无水硫酸钠充分研磨,保存待萃取.组织水平为3条蚯蚓放入5mL、70%的酒精小试管中20s,接着快速将蚯蚓取出,用解剖针固定、解剖,分别处理蚯蚓的表皮和肠道,分别称重后加入3g无水硫酸钠充分研磨,保存待萃取.亚细胞水平为3条蚯蚓称重后放入研钵,加入3mL的Tris-HCl缓冲液,充分研磨至无明显组织块,将匀浆液置于高速离心机(转速10000×g)离心10min,分离胞内组分和胞外组分,放入冷冻干燥机干燥后萃取.

样品的萃取+净化+旋蒸+定容^[13]:将磨碎的蚯蚓粉末样品转移至40mL棕色玻璃离心管中,加入20mL二氯甲烷作萃取剂,密封后置于加有冰块的超声机中超声萃取30min,接着在转速3500rad/min的离心机中离心10min,倒出上清液,重复上述操作3次.合并3次上清液于旋转蒸发器中旋蒸至约5mL时,转移至自上而下装入的无水硫酸钠--氧化铝--硅胶层析柱(1g--2g--2g),用20mL1:1的二氯甲烷和正己烷溶液分2次洗脱,洗脱结束后再分2次各加10mL二氯甲烷洗脱,确保层析柱中无TCS残留,继续旋蒸至样品约1mL时,于氮吹仪中氮吹至干后加入1mL甲醇溶解定容,过0.22μm有机相滤膜后上机测样.

TCS测定:采用高效液相色谱仪测定样品,型号为1260 Infinity II,色谱柱为C₁₈柱(Agilent,4.6×100mm,2.7μm).色谱条件为,柱温:30℃;测定波长:282nm;流动相为色谱纯甲醇:高纯水=98:2;流速为1.0mL/min;进样量10μL.根据出峰时间定性,峰面积(外标法)定量不同分组模式蚯蚓体内TCS的富集量.

酶活性测定:准确称取1条蚯蚓的重量,按重量(g):体积(mL)=1:9的比例加入9倍体积的生理盐水,在碎冰上快速充分研磨成浆液,倒入10mL离心管中,2500rad/min离心10min后,将上清液倒入新的10mL塑料离心管中,即为10%组织匀浆,置于4℃冰箱保存,尽快测定.总蛋白浓度、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽硫转移酶(GST)、丙二醛含量(MDA)、乙酰胆碱酯酶(AChE)、8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)、蛋白酶、K⁺Na⁺-ATP酶、Ca²⁺-ATP酶活性的测定,按照南京建成生物有限公司试剂盒的操作说明书进行.

1.4 数据统计分析

所有数据采用origin8.6软件进行数据统计与图形绘制,采用SPSS软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA)与LSD检验,显著性水平为 $p<0.05$.试验结果以(均数±标准差)($\bar{x}\pm SD, n=3$)的形式表示.

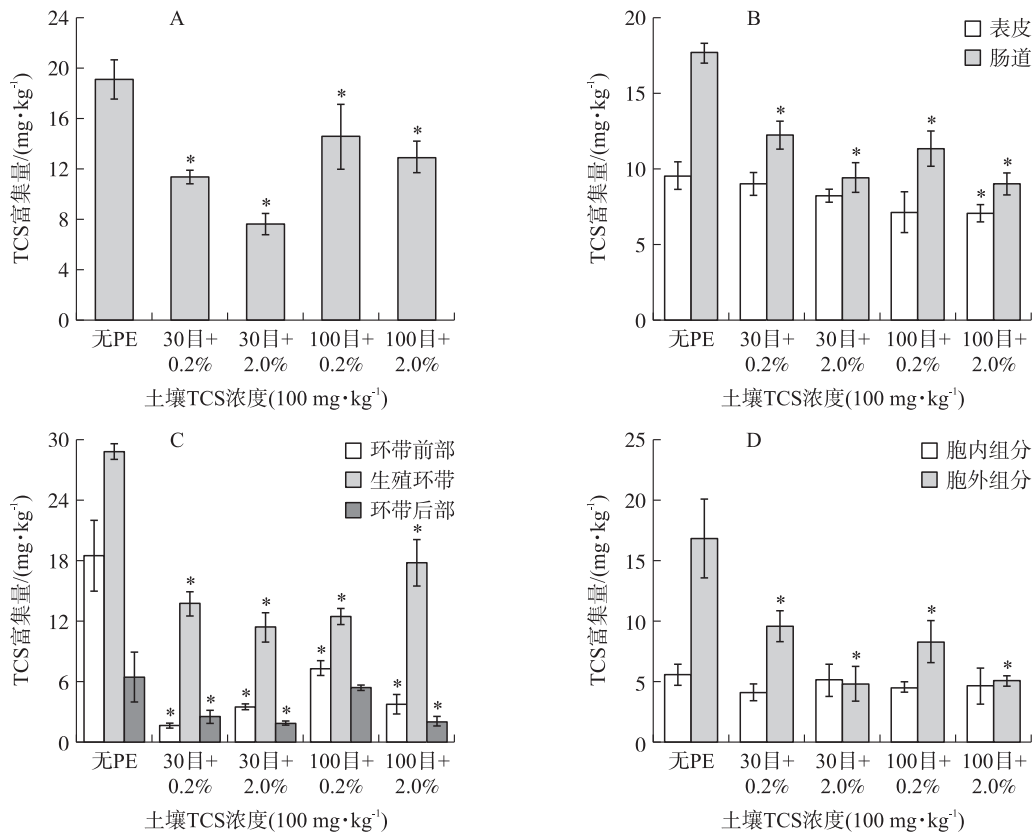
2 结果与分析

2.1 PE对TCS在蚯蚓体内富集分布的影响

如图1A所示,PE的添加显著降低了TCS在蚯蚓个体水平的富集,即在30目+0.2%、30目+2.0%、100目+0.2%、100目+2.0%介导下TCS的降低量分别为对照组的76.2%、76.3%和68.1%、66.8%.PE粒径越大,浓度越高,TCS富集量越低.组织水平上,相对于表皮的积累量,蚯蚓肠道的积累量更高(图1B).PE显著降低了蚯蚓肠道TCS的富集量,30目+0.2%、30目+2.0%、100目+0.2%、100目+2.0%处理组降低量分别为对照组的69.2%、53.3%和50.8%、64.1%;而对蚯蚓表皮富集量的影响仅表现在100目+2.0%参与中,降低量为74.0%;且PE对蚯蚓肠道TCS富集量的影响高于表皮.亚机体水平上,TCS在蚯蚓体内的富集量表现出生殖环带>环带前部>环带后部的趋势(图1C);PE降低了机体各部位的TCS富集量,尤其是环带前部的降低量最为显著,30目+0.2%、30目+2.0%、100目+0.2%、100目+2.0%处理组分别为对照组的8.7%、18.8%、39.5%、20.0%.亚细胞水平,TCS在蚯蚓胞外组分的分布大于胞内组分,PE显著降低了TCS在胞外组分的分布,30目+0.2%、30目+2.0%、100目+0.2%、100目+2.0%处理组分别为对照的76.2%、76.3%、68.1%、66.8%,而对TCS在胞内组分的分布影响不大(图1D).

2.2 PE-TCS复合暴露对蚯蚓氧化应激效应的影响

SOD、CAT、MDA、GST、AChE、8-OHdG的活性结果见图2.与对照相比,单一暴露100目+0.2%、100目+2.0%和TCS组,SOD活性显著增强,分别为对照的1.26、1.32和1.24倍,MDA含量总体上升,分别为对照的1.45、1.36和1.29倍.相比单一TCS暴露,PE-TCS复合暴露未发现SOD显著激活,且有略微减弱的趋



数值以(平均值±标准差)的形式展出($n=3$)。*表示 PE-TCS 复合暴露组与 TCS 单一暴露组相比,平均值在 $p<0.05$ 时具有显著的统计学差异。

图 1 PE 对 TCS 在蚯蚓个体(A)、组织(B)、亚机体(C)、亚细胞(D)水平富集的影响

Fig. 1 Effects of PE on TCS accumulation in earthworms at individual(A), tissue(B), suborganism(C) and subcellular(D) levels

势,MDA 亦出现类似规律. 与对照相比,TCS 单一暴露组,CAT 活性显著降低,为对照的 80.4%;GST 活性显著增加,为对照的 1.61 倍;AChE 活性显著增加,为对照的 1.15 倍. PE-TCS 复合暴露组的 GST、AChE 活性较 TCS 单一暴露组而言,均有下调趋势,其中 GST 组显著下调. 与对照相比,单一暴露组 100 目+2.0% 和 TCS,8-OHdG 显著增加. 与单一 TCS 暴露组相比,8-OHdG 在 30 目 PE-TCS 复合暴露下显著抑制,100 目 PE-TCS 复合暴露下显著促进.

2.3 PE-TCS 复合暴露对蚯蚓消化、ATP 酶活性的影响

ACP、AKP、蛋白酶、 K^+Na^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} -ATP 酶活性变化结果见图 3. 其中,ACP 与 AKP 活性在 TCS 暴露组中显著低于对照组,而 PE 暴露组与对照组的差异基本不显著. ACP 活性在 PE-TCS 复合暴露组显著高于单一 TCS 暴露组,分别为 TCS 组的 1.33(30 目+0.2%)、1.72(30 目+2.0%)、1.19(100 目+0.2%)、1.08(100 目+2.0%) 倍. AKP 活力在 PE-TCS 复合暴露组显著低于单一 TCS 暴露组,分别为 TCS 组的 52.0%、57.1%、41.6%、45.0%. ACP 和 AKP 在 TCS 组和 PE-TCS 复合暴露组中的变化趋势较为一致,均低于对照组. 与对照组相比,蛋白酶在 PE(30 目+2.0%和 100 目+2.0%)和 TCS 的暴露下活性显著降低, K^+Na^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} -ATP 酶在 100 目 PE 暴露下显著增加. 与单一 TCS 组相比,PE-TCS 复合暴露 K^+Na^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} -ATP 酶显著抑制.

3 讨论

3.1 PE 对 TCS 在蚯蚓体内富集与分布的影响

MPs 对其他污染物在蚯蚓体内富集分布的影响,有助于揭示 MPs 作为污染物载体,如何影响污染物在土壤生态系统中的传播扩散、迁移转化. MPs 会增强或降低蚯蚓体内污染物的富集,存有争议^[14-20]. 本研究发现,PE 显著降低了 TCS 在蚯蚓体内的富集,相比 100 目 PE、30 目 PE 介导下,蚯蚓体内 TCS 富集量更低. 这一结论印证了 Wang、张凯和 Jiang 等的研究发现^[14-16]. Wang 等^[14]研究表明,PE 和 PS 降低了疏

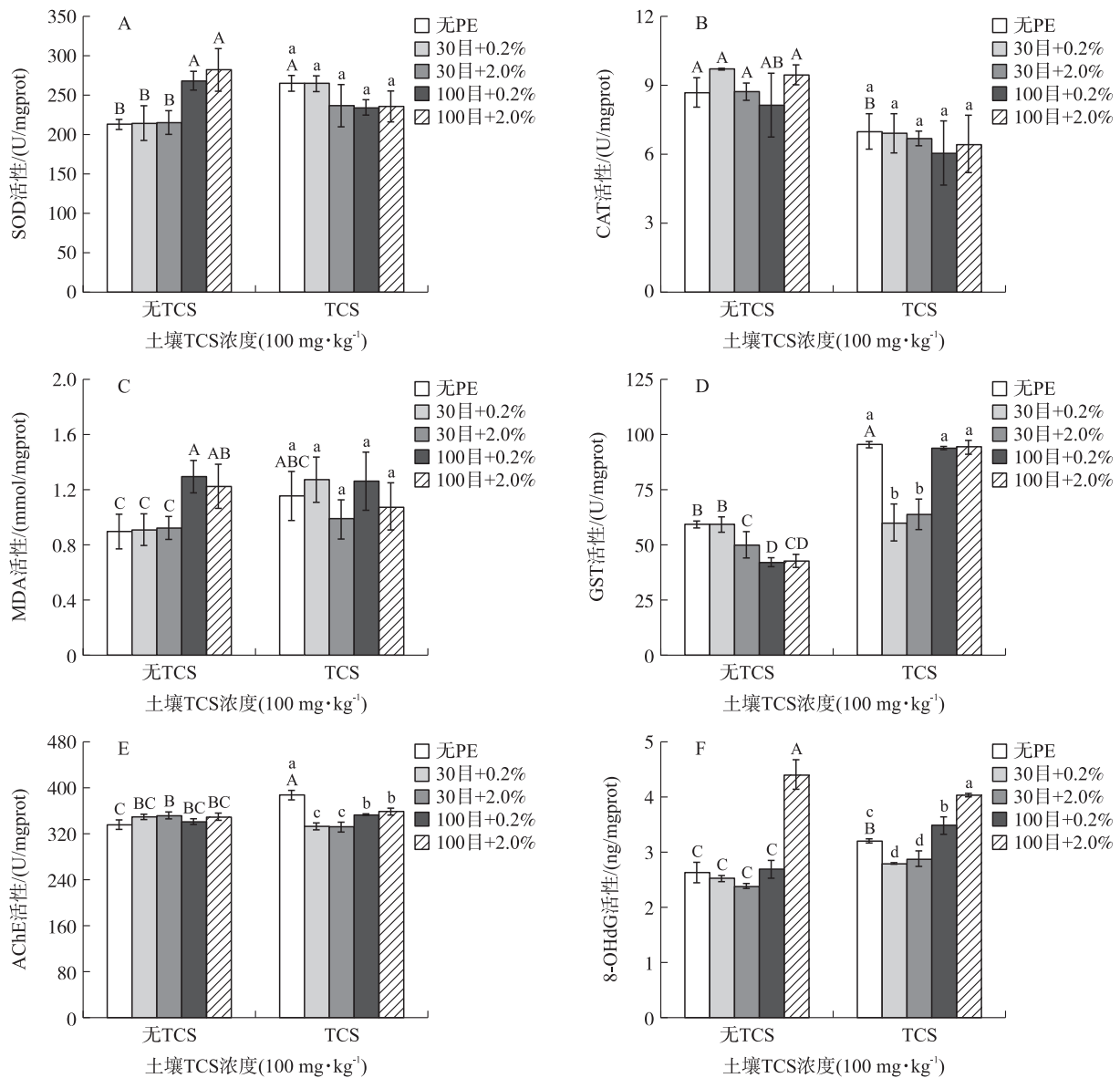


图2 PE-TCS 复合暴露对蚯蚓 SOD、CAT、MDA、GST、AChE 和 8-OHdG 的影响

Fig. 2 Effect of PE and TCS combined exposure on SOD, CAT, MDA, GST, AChE and 8-OHdG activity in earthworms

注:大写字母表示单一暴露组与对照暴露组相比,蚯蚓体内 SOD、CAT、MDA、GST、AChE 和 8-OHdG 指标的统计学差异 ($p < 0.05$);小写字母表示 PE-TCS 复合暴露组与 TCS 单一暴露组相比,蚯蚓体内 SOD、CAT、MDA、GST、AChE 和 8-OHdG 的统计学差异 ($p < 0.05$). 下同.

水性有机污染物(多氯联苯、多环芳烃)在蚯蚓组织的富集量. 张凯等^[15]发现,粒径为 75~550 μm 的可降解微塑料降低了蚯蚓体内的六溴环十二烷浓度. Jiang 等^[16]利用¹⁴C 放射性追踪标记技术发现,1000 μm 和 500 μm PS 均降低了威廉腔蚓体内菲的积累. PE 影响 TCS 在蚯蚓体内的富集,在于 PE 比表面积大、强疏水性及吸附和转运污染物等物理特性^[1]. 即不可摄入 PE(30 目)吸附土壤中的 TCS,降低土壤 TCS 浓度,使蚯蚓摄入 TCS 的几率大幅降低;可摄入 PE(100 目)降低蚯蚓体内 TCS 的富集,可能在于 PE 在摄入到排出体外的过程中,PE 对 TCS 的吸附力强于肠道组织,另 PE 引起的物理磨损或堵塞也会降低肠道组织吸收 TCS 的能力^[17]. 另有研究^[18-20]发现,10 nm、10 μm 、100 μm 的 PS 均促进蚯蚓对菲的积累^[18],150 μm 的 PP 提高蚯蚓对镉的积累^[19]、30 μm 和 100 μm 的 PE 增强了蚯蚓对铜和镍的富集^[20]. 这可能在于蚯蚓对污染物的富集,受到 MPs 种类、粒径、浓度,土壤类型,污染物的种类和性质(K_{ow})等多种因素的影响.

本研究发现,相对于单一污染,PE 介导下,TCS 在蚯蚓表皮的富集变化不显著,在肠道的富集变化较为显著,30 目+0.2%PE、30 目+2.0%PE、100 目+0.2%PE、100 目+2.0%PE 介导下,分别比单一 TCS 污染高出 3.23、1.22、4.22、1.93 mg/kg. 这在于 TCS 的 $\log K_{ow}$ 为 5.4 时,蚯蚓对污染物的吸收以肠道为主,有机质含

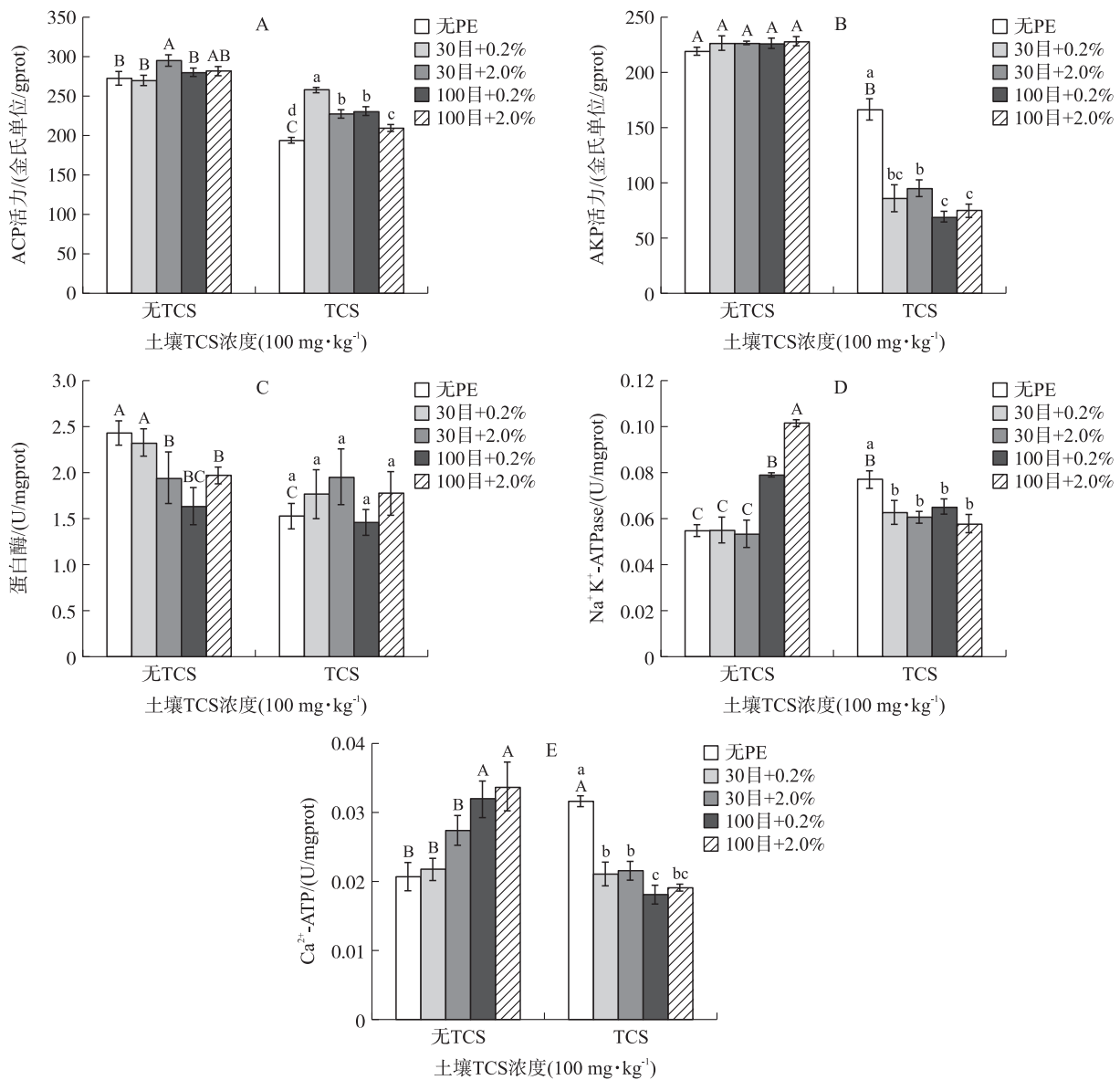


图 3 PE-TCS 复合暴露对蚯蚓 ACP、AKP、蛋白酶、 K^+Na^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} -ATP 酶活性的影响

Fig. 3 Effect of PE and TCS combined exposure on ACP,AKP,pepsin, K^+Na^+ -ATP, Ca^{2+} -ATP activity in earthworms

量高的土壤中尤为显著^[21]。而当污染物的 $\log K_{ow} < 5$ 时,则以蚯蚓表皮吸收土壤水溶液中的 TCS 为主。亚机体水平上,TCS 的富集分布以生殖环带的浓度最高,其次是环带前部和后部。这一发现与 Zhang 等^[22]的发现较为一致。Zhang 等^[22]发现,苯并芘在赤子爱胜蚓、威廉腔环蚓和秉氏远盲蚓的生殖系统的富集量最高,并显著诱导 *annetocin* 生殖基因表达。PE 介导下,TCS 的降低量在环带前部的变化最为显著。这可能因为环带前部各个器官(腔、咽喉、食道、嗦囊、砂囊,心和胃)对 TCS 的吸附弱于 PE。亚细胞水平上,胞外组分的 TCS 浓度始终高于胞内组分,PE 介导下,胞外 TCS 的浓度变化较为显著,胞内则不显著。这可能在于胞外组分中含有较高的脂类成分,易“捕获”疏水性化合物。它表明 PE 颗粒易影响细胞外部环境。

3.2 PE 与 TCS 复合暴露对蚯蚓氧化应激效应的影响

SOD、CAT 可清除机体产生的过量活性氧,如超氧自由基和过氧化氢自由基,维持肌体的正常生理活动^[23]。MDA 是细胞自由基引发的脂质过氧化作用的分解产物,其含量的多少反应脂质过氧化程度及自由基对机体的损伤程度^[23]。本研究发现,100 目 PE 暴露组、单一 TCS 暴露组,蚯蚓体内 SOD 活性和 MDA 含量呈现激活状态。这可能是 100 目 PE 进入-排出蚯蚓肠道的过程中对肠道组织造成轻微损伤和炎症。TCS 趁机诱导蚯蚓细胞内 SOD 活性的升高,MDA 的增强以消除基体产生的氧自由基胁迫。这是生物体应激反应的正常表现。单一 TCS 暴露组的 CAT 活性显著降低,可能是 SOD 的增强快速清除了部分活性氧,蚯蚓

通过自身的调节抑制 CAT 发挥作用。

GST 是一种生物代谢酶,可催化谷胱甘肽释放巯基集团与细胞内外的亲电子集团发生反应,降解排出体内的有毒物质^[24]。AChE 是神经中枢系统信息传导中的一种关键酶,可降解乙酰胆碱,保证神经信号在生物体内的正常传递^[22]。研究发现,100 目 PE 组的 GST、AChE 活性受到抑制(SOD 和 MDA 的增强提供主要贡献),TCS 组显著增强,表明 GST 和 AChE 被 TCS 诱导激活,继续提供有效的抗氧化防御作用。这与 Li 和 Lin 的研究较为一致。Li 等和 Lin 等^[25-26]发现,在单一污染物 MPs(28~145 μm 的 HDPE 和 8~125 μm 的 PP)^[25]和 TCS^[26]的胁迫下,蚯蚓的 SOD、GST、MDA 含量被显著诱导。

8-OHdG 是敏感的 DNA 损伤标志物^[24]。研究发现,单一 100 目+2.0%PE, TCS 暴露组,100 目+2.0%PE、TCS 复合暴露组,8-OHdG 显著增加。这说明 4 种处理组的 DNA 明显受到损害。这与李晓颖^[27]的发现较为一致。李晓颖^[27]发现,赤子爱胜蚓体内 8-OHdG 含量与莠去津浓度呈现明显的剂量-效应关系。

PE-TCS 复合暴露组,SOD、CAT、MDA、AChE 未表现出协同效应。相比 100 目+2.0%PE 组,PE-TCS 复合暴露,GST 表现出协同效应,8-OHdG 表现出拮抗效应。相比单一 TCS 暴露组,PE-TCS 复合暴露,GST 表现出拮抗效应,8-OHdG 表现出协同效应。这一发现与 Zhou 等和 Cheng 等^[28-29]的研究不太一致。Zhou 等和 Cheng 等发现,MPs-毒氟磷^[27]、PS-菲^[20]、LDPE-锈去津^[28]、PP-镉^[29]的复合胁迫对蚯蚓 SOD、CAT、GSH 的负面效应增大。这再次表明不同酶对单一和复合污染的敏感性不同,其通过相互协同合作抵抗氧化损伤;复合污染物对环境生物毒性效应可能存在协同或者拮抗现象^[30]。

3.3 PE 与 TCS 复合暴露对蚯蚓消化酶、ATP 酶活性的影响

磷酸酶(APC、AKP)在营养物质的消化、吸收、运输及转运和代谢磷酸基团等过程发挥重要的免疫调控效应。研究发现,PE 暴露下,蚯蚓 ACP 和 AKP 活性未发生变化;TCS 暴露下,ACP 和 AKP 活性显著降低。这表明 TCS 对蚯蚓吸收营养物质的抑制比 PE 更强烈。研究发现佐证了张薇等和高玉红等的报道^[31-32]。张薇等和高玉红等发现,相比对照组,复合暴露组 ACP 活性升高,是因为蚯蚓机体需要吸收大量营养物质,产生更多的溶酶体和水解酶抵抗污染物暴露对组织器官的复合胁迫。复合暴露下,相对于 TCS 组,ACP 变化不显著,AKP 活性显著降低。这可能是因为蚯蚓吸收的营养物质主要用于抵抗胁迫而不足以二磷酸腺(ADP)磷酸化形成腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)提供物质的转运和循环能量^[31-32]。

蛋白酶是负责将食物中的蛋白质分解为小肽片段的一种内切酶。单一 PE、TCS 暴露下,蛋白酶活性均呈现降低趋势,其中,TCS 组的降低最为显著,为对照的 62.7%。这可能是因为 MPs 的物理损伤,如堵塞或磨损摄食器官和消化道,及 TCS 的化学毒害,降低蚯蚓摄食率,杨扬^[33]的研究也证实了这一发现。杨扬^[33]发现,有机磷阻燃剂 TnBP 暴露下,蚯蚓肠道蛋白酶的活性受到显著抑制,且 TnBP 浓度越高,抑制效果越显著。

ATP 酶($\text{K}^+\text{Na}^+\text{-ATP}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATP}$)是质膜上离子通道特征酶,可催化质膜内侧的 ATP 水解,维持细胞内外离子浓度、膜电位、渗透压平衡。100 目 PE 和 TCS 单一暴露下,ATP 酶增高是蚯蚓对污染物生理应激反应。复合暴露下,ATP 酶降低,这表明膜内外 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 分布异常,出现胞内 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 超载。Zhu 等^[34]研究发现,氯氰菊酯通过抑制蚯蚓精子中 $\text{K}^+\text{Na}^+\text{-ATP}$ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATP}$ 酶活性,影响蚯蚓的精子细胞钙稳态和能量供应。

本研究通过室内模拟实验,系统探究了可摄入和不可摄入的 PE 颗粒对 TCS 在蚯蚓体内富集、分布及其复合暴露对蚯蚓毒性效应的影响特征,有助于全面认识 MPs 作为吸附载体,对其他污染物在生物体内富集分布的影响,及其复合暴露对土壤生物的毒性效应,为农田土壤 MPs 复合污染的环境行为和生态风险评估、污染治理提供科学依据。主要创新点:(1)PE 通过显著降低 TCS 在蚯蚓肠道、环带和胞外组分的分布,降低 TCS 在蚯蚓体内的富集;(2)总体上,TCS 对蚯蚓的毒性作用大于 PE,毒性指标 SOD、MDA、8-OHdG 的诱导效果强于 PE;相比不可摄入粒径,可摄入粒径 PE 增强 TCS 对 DNA 损伤,加重 TCS 对细胞内外离子平衡的干扰。不足之处在于:(1)关于 PE 降低蚯蚓体内 TCS 富集的作用机制未揭示,后期可通过将蚯蚓冷冻干燥研磨后,通过吸附解吸实验进行验证;(2)PE 与 TCS 对蚯蚓复合毒性研究仅停留在酶活性等相关指标,未更深入揭示致毒机制,后期可通过肠道微生物组学、转录组学和代谢组学等在微生物、分子、代谢水平揭示致毒机制。

4 结论

可摄入、不可摄入粒径 PE 均显著抑制了 TCS 在蚯蚓体内的生物富集,其中 PE 浓度越高,抑制效果越显著。相比表皮,头部和尾部、胞内组分,PE 显著降低了 TCS 在蚯蚓肠道、环带和胞外组分的分布。单一暴露组,可摄入粒径 PE、TCS 诱导 SOD、MDA、8-OHdG、ATP 酶的升高应对抗氧化胁迫和保持细胞内外离子平衡,且 TCS 诱导效应强于 PE 颗粒。复合暴露组,可摄入粒径 PE 未增强 TCS 对蚯蚓的氧化胁迫相关酶,但诱导了 TCS 组的 8-OHdG 指标,抑制了 TCS 组的 AKP、 K^+Na^+ -ATP、 Ca^{2+} -ATP 酶活性指标,表明可摄入粒径增强 TCS 对 DNA 损伤,加重 TCS 对细胞内外离子平衡的干扰。

[参考文献]

- [1] 寇诗棋,关卓,鲁旭阳,等. 土壤中微塑料迁移及其对有机污染物的影响研究进展[J]. 土壤,2024,56(3):457-470.
- [2] Xu B L, Liu F, Cryder Z, et al. Microplastics in the soil environment: occurrence, risks, interactions and fate: a review[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2019, 28: 1-49.
- [3] Zhang G, Liu Y. The distribution of microplastics in soil aggregate fractions in Southwestern China[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 642: 12-20.
- [4] 葛昶,田晓庆,于福荣,等. 锰氧化物对土壤中三氯生的化学氧化[J]. 土壤,2024,56(1):155-162.
- [5] Bian J L, Nian P, Zhou Z Y, et al. A critical review of co-pollution of microplastics and heavy metals in agricultural soil environments[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2024, 286: 117248.
- [6] Cui W Z, Gao P P, Zhang M Y, et al. Adverse effects of microplastics on earthworms: a critical review[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 850: 158041.
- [7] 郭佳葳,周世萍,刘守庆,等. 蚯蚓生物标志物在土壤生态系统监测中的应用研究进展[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(5): 69-81.
- [8] 许雅丽. 蚯蚓对不同类型微塑料的摄食偏好和排泄规律研究[D]. 天津:南开大学, 2020.
- [9] 杨晓霞,张雪梅,舒晓,等. 不同粒径聚乙烯微塑料对赤子爱胜蚓的代谢毒性[J]. 中国环境科学, 2025, 45(2): 1063-1073.
- [10] Green D S, Boots B, Sigwart J, et al. Effects of conventional and biodegradable microplastics on a marine ecosystem engineer (*Arenicola marina*) and sediment nutrient cycling[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 208: 426-434.
- [11] Green D S, Boots B, Oconnor N E, et al. Microplastics affect the ecological functioning of an important biogenic habitat[J]. *Environmental Science Technology*, 2017, 51(1): 68-77.
- [12] 张力浩. 蚯蚓对苯并[a]芘和镉的毒性响应及差异机制研究[D]. 南京:南京农业大学, 2019.
- [13] Ma L L, Xie Y W, Han Z H, et al. Responses of earthworms and microbial communities in their guts to Triclosan[J]. *Chemosphere*, 2017, 168: 1194-1202.
- [14] Wang J, Coffin S, Sun C L, et al. Negligible effects of microplastics on animal fitness and HOC bioaccumulation in earthworm *Eisenia fetida* in soil[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 249: 776-784.
- [15] 张凯,孙红文,张鹏,等. 可降解微塑料对蚯蚓富集土壤中六溴环十二烷的影响[C]//“农田土壤污染与修复研讨会”第二届山东省土壤污染防治与修复技术研讨会. 济南:中国土壤学会, 2017.
- [16] Jiang X T, Ma Y N, Wang L, et al. Effects of nano- and microplastics on the bioaccumulation and distribution of phenanthrene in the soil feeding earthworm *Metaphire guillelmi*[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 834: 155125.
- [17] 凌红. 微塑料对蚯蚓肠道微生物组及抗生素抗性组的影响[D]. 合肥:安徽农业学, 2023.
- [18] Xu G H, Liu Y, Song X, et al. Size effects of microplastics on accumulation and elimination of phenanthrene in earthworms[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 403: 123966.
- [19] Huang C D, Ge Y, Yue S Z, et al. Microplastics aggravate the joint toxicity to earthworm *Eisenia fetida* with cadmium by altering its availability[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 53: 142042.
- [20] Li M, Liu Y, Xu G H. Impacts of polyethylene microplastics on bioavailability and toxicity of metals in soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 760: 144037.
- [21] 史志明,徐莉,胡锋. 蚯蚓蓄积疏水性有机污染物的过程及预测模型[J]. 土壤学报, 2014, 1(51): 1-10.
- [22] Zhang L H, He N N, Chang D L, et al. Does ecotype matter? The influence of ecophysiology on benzo[a]pyrene and cadmium

- accumulation and distribution in earthworms[J]. *Soil Biology and Biochemistry*,2018,121:24-34.
- [23] 华子麟. 重金属复合污染对土壤中蚯蚓生物标志物的影响[D]. 南京:南京农业大学,2020.
- [24] Xu Z N,Zhang Z Q,Wang X R. Ecotoxicological effects of soil lithium on earthworm *Eisenia fetida*:Lethality,bioaccumulation, biomarker responses,and histopathological changes[J]. *Environmental Pollution*,2023,330:121748.
- [25] Li B, Song W H, Cheng Y L, et al. Ecotoxicological effects of different size ranges of industrial-grade polyethylene and polypropylene microplastics on earthworms *Eisenia fetida*[J]. *Science of the Total Environment*,2021,783:147007.
- [26] Lin D S,Zhou Q X,Xie X J, et al. Potential biochemical and genetic toxicity of triclosan as an emerging pollutant on earthworms(*Eisenia fetida*)[J]. *Chemosphere*,2010,81:1328-1333.
- [27] 李晓颖. 莠去津在不同土壤中对蚯蚓的急性毒性和氧化应激毒性效应研究[D]. 济南:山东农业大学,2016.
- [28] Zhou Y F,Liu X N,Wang J. Ecotoxicological effects of microplastics and cadmium on the earthworm *Eisenia foetida*[J]. *Journal of Hazardous Materials*,2020,392:1-10.
- [29] Cheng Y L,Zhu L S,Song W H, et al. Combined effects of mulch film-derived microplastics and atrazine on oxidative stress and gene expression in earthworm(*Eisenia fetida*)[J]. *Science of the Total Environment*,2020,746:141280.
- [30] 周艳飞. 土壤微塑料分布特征及其与镉复合污染的生态风险[D]. 北京:中国科学技术大学,2021.
- [31] 张薇,张萌,陈凯,等. 恩诺沙星和铜复合污染对蚯蚓消化酶活性的影响[J]. *应用生态学报*,2019,30(6):2049-2055.
- [32] 高玉红,孙振钧,孙新胜,等. 阿苯哒唑对蚯蚓(*Eisenia fetida*)酸性磷酸酶、谷胱甘肽硫转移酶及腺三磷酶活性的影响[J]. *生态学报*,2007,9(27):3916-3922.
- [33] 杨扬. 有机磷酸酯(OPEs)对赤子爱胜蚓的毒性效应及机制研究[D]. 南京:南京大学,2018.
- [34] Zhu X Z,Xiong Z P,Zhou S P, et al. Analysis of reproductive damage in earthworms (*Amyntas corticis*) exposed to cypermethrin[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*,2022,244:114038.

[责任编辑:黄 敏]