

# 长时间微塑料环境暴露对肉芝软珊瑚的影响

陆昊<sup>1</sup>, 李卫东<sup>2</sup>, 王沛政<sup>2</sup>

(1. 海南大学 海洋学院, 海南 海口 570228; 2. 海南热带海洋学院 水产与生命学院, 海南 三亚 572022)

**摘要:** 目前海洋微塑料对海洋生物的生存及人类的健康已经造成了严重的影响。为探究微塑料对我国海南岛近海珊瑚礁常见珊瑚肉芝软珊瑚的影响, 本实验将肉芝软珊瑚长时间暴露于微塑料环境中, 测定在此过程中的虫黄藻密度, 叶绿素含量, 以及部分关键酶的活性。结果显示: 在微塑料胁迫后, 共生虫黄藻的密度在第 1 天开始显著下降, 并在 15 天后达到最低值 $(1.52 \pm 0.06) \times 10^6 \text{ cell/cm}^2$  ( $P < 0.05$ ); 叶绿素含量在 50 天内显著下降, 在第 50 天时达到最低值 $3.45 \pm 0.35 \mu\text{g/cm}^2$ ; SOD 活性和 CAT 活性在 3 天内显著升高, 并在第三天达到最高值, 分别为 $34.39 \pm 1.33 \text{ U/mg prot}$  和 $34.80 \pm 1.51 \text{ U/mg prot}$ , 此后显著下降; 同样 GST 活性也迅速上升, 在第 1 天和第 15 天出现两个峰值, 分别是 $1.22 \pm 0.04 \text{ U/mg prot}$  和 $1.33 \pm 0.04 \text{ U/mg prot}$ ; 而 ACP 与 AKP 活性也有迅速下降趋势。本实验为研究微塑料环境对珊瑚礁的影响提供数据支持。

**关键词:** 微塑料; 肉芝软珊瑚; 虫黄藻; 叶绿素; 酶活性

中图分类号: Q178.53

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2019)11-0049-07

DOI: 10.11759/hyhx20190528002

塑料产业的快速发展不仅仅带来经济的提升, 同时也引起了诸多污染问题。如今世界塑料年产量已经超过 3 亿吨<sup>[1]</sup>, 其中大量塑料制品通过陆地径流, 捕捞行业和其他方式进入海洋成为海洋中的白色污染<sup>[2-3]</sup>。这些塑料制品通过长时间的光解, 热氧化, 水解, 磨料和生物风化变成直径在 5 mm 以下的微塑料<sup>[4-5]</sup>。由于陆地是塑料的主要来源, 珊瑚礁等沿海生态系统受到的影响更加严重<sup>[6-8]</sup>。不同珊瑚礁生物因为不同的生活史和摄食行为对微塑料的反应各不相同<sup>[9]</sup>, Hall 等<sup>[10]</sup>也证实了大量微塑料能通过珊瑚的滤食行为进入珊瑚体内。

氧化还原系统是珊瑚识别和清除病原生物或物质的重要防御系统, 环境的改变会使珊瑚氧化还原系统发生改变。如 Levy 等<sup>[11]</sup>发现光谱波长对正菊珊瑚(*Favia fava*)的超氧化物歧化酶(SOD)活性和过氧化氢酶(CAT)活性产生影响。Tatiana 等<sup>[12]</sup>也从热应激和高光角度对珊瑚 SOD、CAT 和谷胱甘肽转移酶(GST)活性变化进行了相关研究。微塑料作为外源物被珊瑚摄入会对其氧化还原系统产生影响也在 Tang 等<sup>[13]</sup>的研究中得到证实, 但从 24h 内急性微塑料环境暴露所得的实验结果仍无法反映自然海域珊瑚长时间暴露的情况。

软珊瑚是珊瑚礁生态系统中重要的组成部分, 具有极强的药用价值。我国南海软珊瑚种类资源十

分丰富, 但目前国内对软珊瑚的研究处于停滞状态。在南海高浓度微塑料环境下<sup>[14]</sup>, 探究长时间微塑料环境暴露对软珊瑚影响尤为重要。本研究中, 笔者以三亚市西岛珊瑚礁保护区常见种花环肉芝软珊瑚(*Sarcophyton trocheliophorum*)为研究对象, 在实验室条件下, 从珊瑚共生藻密度, 叶绿素含量, SOD 活性, CAT 活性, 碱性磷酸酶(AKP)活性, 酸性磷酸酶(ACP)活性和 GST 活性的角度出发, 研究花环肉芝软珊瑚对长时间微塑料环境暴露下的胁迫响应, 旨在阐明海洋环境遭受微塑料破坏后对珊瑚的影响, 为珊瑚礁生态恢复提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 珊瑚采集

一株花环肉芝软珊瑚活体样品采自西岛珊瑚礁

收稿日期: 2019-05-28; 修回日期: 2019-08-26

基金项目: 2016 年海南省重大科技计划(ZDKJ2016009-03)

[Foundation: Science and Technology Major Project of Hainan Province, No. ZDKJ2016009-3]

作者简介: 陆昊(1994-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为海洋生物分子生物学, 电话 18289378170, E-mail: 836879118@qq.com; 李卫东, 男, 研究员, 通信作者, 研究方向: 海洋生物分子生物学。E-mail: 542148880@qq.com; 王沛政, 男, 研究员, 通信作者, 研究方向: 海洋生物分子生物学。E-mail: condywpz@126.com

自然保护区(18°14'57"N, 109°22'51"E)。运回实验室后暂养于水族箱(规格为 70 cm×50 cm×60 cm), 暂养条件与晁华等<sup>[15]</sup>方法一致(水温 28℃, 盐度 34‰, 光暗比 12h : 12h, 水流循环 2 000 L/h)。暂养一周后, 用解剖刀将珊瑚分解成规格大小约 5×5 cm 的小个体, 黏附于陶瓷底座后继续暂养 2 周。

## 1.2 微塑料暴露

根据 Tang 等<sup>[13]</sup>的方法在处理组中添加直径为 1 μm 的单分散聚苯乙烯微塑料( $1.4 \times 10^9$  粒/mg)(塞尔群, 天津, 中国), 海水中微塑料浓度为 50 mg/L,  $7 \times 10^{10}$  粒/L。分别将触手伸展正常的 30 个珊瑚个体(共 60 个)放置于对照组(海水中微塑料浓度为 0)与处理组两个水族箱中, 条件与暂养条件一致, 养殖期间通过少量曝气防止微塑料沉积聚集, 微塑料均能悬浮于海水中。实验周期内自然蒸发的水体通过添加过滤海水进行补充, 以保持水族箱内微塑料的浓度。在养殖 0, 1, 3, 7, 15, 30, 50 天分别在两个水族箱中随机挑选 3 个珊瑚个体采样标号, 保存于液氮中备用。

## 1.3 共生藻密度测定

根据雷新民等<sup>[16]</sup>方法进行改进, 取珊瑚组织与 10 mL 左右的磷酸缓冲液(PBS, pH=7.4)进行研磨匀浆。量取 9 mL 匀浆液与 1 mL 甲醛混匀, 静置 3 min 后用离心机在 4 500 r/min, 4℃离心 15 min, 取上清液用血球计数板计数(个/mL)。使用铝箔法<sup>[17]</sup>测量珊瑚表面积, 共生密度被定义为每单位面积珊瑚的共生体的数量(个/cm<sup>2</sup>)。

## 1.4 叶绿素 a 含量测定

参照 Hedouin 等<sup>[18]</sup>的方法, 2 mL 组织匀浆液在 2 400 r/min, 4℃下离心 10 min 以获得珊瑚共生虫黄藻, 随后在 PBS 中重新悬浮, 在 4 500 r/min, 4℃下离心 30s 后用 2 mL 丙酮在黑暗条件下 4℃下萃取 24 h。在 630 nm, 647 nm 和 663 nm 处测定提取液的吸光度

值。使用以下公式计算:

$$\text{Chl} = 11.85A_{663} - 1.54A_{647} - 0.08A_{630}$$

式中, Chl 为珊瑚表面单位面积叶绿素 a 含量(μg/cm<sup>2</sup>), A 为不同波长下的吸光值。

## 1.5 SOD, CAT, AKP, ACP 和 GST 活性测定

准确称取组织重量, 按重量(g): 体积(mL)=1 : 9 比例加入生理盐水后置于冰浴的研钵中迅速研磨成 10%的匀浆。用冷冻离心机离心(3 000 r/min, 10 min, 4℃), 取定量上清液用生理盐水稀释, 使用试剂盒(A001, A007, A059 和 A004, 南京建成, 中国)测定稀释液中 SOD, CAT, AKP, ACP 和 GST 活性, 最后用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(QS3202, 索莱宝, 中国)测定各样品总蛋白含量, 分别使用公式计算将 5 种酶活性单位统一为 U/mg prot。

## 1.6 数据分析

采用 SPSS 13.0 统计软件对各时间点进行单因素方差分析(One-way ANOVA)和 Duncan 多重比较, 以  $\alpha=0.05$  作为差异显著水平, 同时对照组与微塑料胁迫组进行独立样本 T 检验。描述性统计值采用平均值±标准误表示。

# 2 结果

## 2.1 单位面积共生藻密度

从对照组可以发现, 花环肉芝软珊瑚在常规养殖环境下, 其表面单位共生藻密度趋于稳定, 不同时间点差异不显著(表 1)。在微塑料暴露下, 花环肉芝软珊瑚共生虫黄藻密度在 1 天后出现最大值, 分别为  $(2.83 \pm 0.11) \times 10^6$  个/cm<sup>2</sup>, 与对照组差异显著( $P < 0.05$ ), 并在第 15 天  $(1.52 \pm 0.06) \times 10^6$  个/cm<sup>2</sup> 出现最小值。随着胁迫时间的延长, 珊瑚表面单位面积共生虫黄藻密度总体变化趋势是逐渐减少, 并在多数时间点与对照组差异显著( $P < 0.05$ )。

表 1 珊瑚的表面单位面积共生藻密度/( $10^6$  个/cm<sup>2</sup>)

Tab. 1 *Zooxanthella density*/( $10^6$  cells/cm<sup>2</sup>)

| 微塑料浓度      | 天数/d                    |                        |                         |                        |                         |                         |                        |
|------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
|            | 0                       | 1                      | 3                       | 7                      | 15                      | 30                      | 50                     |
| 0          | 2.43±0.08 <sup>ab</sup> | 2.32±0.10 <sup>a</sup> | 2.54±0.09 <sup>bc</sup> | 2.65±0.08 <sup>c</sup> | 2.53±0.06 <sup>bc</sup> | 2.55±0.06 <sup>bc</sup> | 2.37±0.05 <sup>a</sup> |
| 9×1010 粒/L | 2.43±0.08 <sup>a</sup>  | 2.83±0.11 <sup>b</sup> | 2.63±0.10 <sup>c</sup>  | 2.11±0.09 <sup>d</sup> | 1.52±0.06 <sup>e</sup>  | 1.79±0.07 <sup>f</sup>  | 1.69±0.04 <sup>f</sup> |
| T-test     | 1                       | 0.04                   | 0.294                   | 0.01                   | 0.00003                 | 0.0001                  | 0.0005                 |
| Sig        | ns                      | *                      | ns                      | *                      | *                       | *                       | *                      |

注: 不同英文字母表示横向数据差异显著( $P < 0.05$ ), \*代表微塑料组和对照组之间的显著差异( $P < 0.05$ ), ns 代表微塑料组和对照组之间无显著性差异

## 2.2 单位面积叶绿素 *a* 含量

随着时间的延长, 对照组珊瑚表面单位面积叶绿素含量趋于减少, 在第 50 天达到最小值( $2.58 \pm 0.06$ )  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , 与前 7 天各时间点差异显著(表 2)。在微塑料暴露下, 叶绿素含量在 1 天后出现最大值( $2.81 \pm 0.05$ )  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , 与对照组差异显著( $P < 0.05$ ), 并在第 7 天出现最小值( $2.03 \pm 0.05$ )  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。随着胁迫时间的延长, 珊瑚表面单位面积叶绿素含量总体变化趋势是逐渐减少, 并在多数时间点与对照组差异显著( $P < 0.05$ )。

表 2 珊瑚的表面单位面积叶绿素 *a* 含量/ $(\mu\text{g}/\text{cm}^2)$

Tab. 2 Chlorophyll *a* / $(\mu\text{g}/\text{cm}^2)$

| 微塑料浓度                  | 天数/d                        |                             |                             |                             |                             |                             |                             |
|------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                        | 0                           | 1                           | 3                           | 7                           | 15                          | 30                          | 50                          |
| 0                      | $2.66 \pm 0.05^{\text{ab}}$ | $2.71 \pm 0.07^{\text{ac}}$ | $2.67 \pm 0.04^{\text{ab}}$ | $2.72 \pm 0.06^{\text{ac}}$ | $2.81 \pm 0.05^{\text{c}}$  | $2.72 \pm 0.07^{\text{ac}}$ | $2.58 \pm 0.06^{\text{b}}$  |
| $9 \times 10^{10}$ 粒/L | $2.66 \pm 0.05^{\text{a}}$  | $2.81 \pm 0.05^{\text{b}}$  | $2.17 \pm 0.04^{\text{c}}$  | $2.03 \pm 0.05^{\text{d}}$  | $2.11 \pm 0.02^{\text{cd}}$ | $2.13 \pm 0.06^{\text{c}}$  | $2.12 \pm 0.07^{\text{cd}}$ |
| T-test                 | 1                           | 0.131                       | 0.000 06                    | 0.000 1                     | 0.000 03                    | 0.000 4                     | 0.001                       |
| Sig                    | ns                          | ns                          | *                           | *                           | *                           | *                           | *                           |

注: 不同英文字母表示横向数据差异显著( $P < 0.05$ ), \*代表微塑料组和对照组之间的显著差异( $P < 0.05$ ), ns 代表微塑料组和对照组之间无显著性差异

表 3 珊瑚 SOD 活性/(U/mg prot)

Tab. 3 SOD activity/(U/mg prot)

| 微塑料浓度                  | 天数/d                        |                             |                             |                              |                             |                             |                              |
|------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
|                        | 0                           | 1                           | 3                           | 7                            | 15                          | 30                          | 50                           |
| 0                      | $23.41 \pm 0.38^{\text{a}}$ | $23.64 \pm 0.29^{\text{a}}$ | $23.69 \pm 0.59^{\text{a}}$ | $23.86 \pm 0.55^{\text{ab}}$ | $24.54 \pm 0.47^{\text{b}}$ | $23.60 \pm 0.35^{\text{a}}$ | $24.11 \pm 0.30^{\text{ab}}$ |
| $9 \times 10^{10}$ 粒/L | $23.41 \pm 0.38^{\text{a}}$ | $26.40 \pm 0.59^{\text{b}}$ | $34.39 \pm 1.33^{\text{c}}$ | $31.12 \pm 0.57^{\text{d}}$  | $30.10 \pm 0.47^{\text{d}}$ | $28.55 \pm 0.34^{\text{e}}$ | $28.63 \pm 0.34^{\text{e}}$  |
| T-test                 | 1                           | 0.002                       | 0.000 2                     | 0.000 09                     | 0.000 1                     | 0.000 06                    | 0.000 06                     |
| Sig                    | ns                          | *                           | *                           | *                            | *                           | *                           | *                            |

注: 不同英文字母表示横向数据差异显著( $P < 0.05$ ), \*代表微塑料组和对照组之间的显著差异( $P < 0.05$ ), ns 代表微塑料组和对照组之间无显著性差异

## 2.4 微塑料对珊瑚 CAT 活性的影响

对照组中珊瑚 CAT 活性在最低值( $25.59 \pm 0.72$ ) U/mg prot 和最高值( $28.61 \pm 0.80$ ) U/mg prot 间波动(表 4), 微塑料胁迫后短时间内珊瑚 CAT 活性迅速升高, 并在第三天到达峰值( $34.80 \pm 1.51$ ) U/mg prot 后缓慢下降。与对照组相比, 微塑料胁迫后珊瑚 CAT 活性在

## 2.3 微塑料对珊瑚 SOD 活性的影响

对照组中珊瑚 SOD 活性在各时间点趋于稳定, 数值在( $23.41 \pm 0.38$ ) U/mg prot 和( $24.54 \pm 0.347$ ) U/mg prot 间波动而未有显著差异(表 3)。微塑料胁迫后, 珊瑚 SOD 活性在第 3 天达到峰值( $34.39 \pm 1.33$ ) U/mg prot 后呈现缓慢下降趋势, 在第 30、50 天到达较低值, 分别为( $28.55 \pm 0.34$ ) U/mg prot、( $28.63 \pm 0.34$ ) U/mg prot。与对照组相比, 微塑料胁迫后珊瑚 SOD 活性在各时间点显著高于对照组( $P < 0.05$ )。

各时间点高于对照组, 并在多数时间点差异显著( $P < 0.05$ )。

## 2.5 微塑料对珊瑚 AKP 活性的影响

在未添加微塑料的对照组中, 珊瑚 AKP 活性随时间延长在最低值( $2.58 \pm 0.06$ ) U/mg prot 和最高值( $2.81 \pm 0.05$ ) U/mg prot 间波动(表 5)。微塑料胁迫 1 天

表 4 珊瑚 CAT 活性/(U/mg prot)

Tab. 4 CAT activity/(U/mg prot)

| 微塑料浓度                  | 天数/d                         |                               |                             |                              |                              |                              |                              |
|------------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                        | 0                            | 1                             | 3                           | 7                            | 15                           | 30                           | 50                           |
| 0                      | $26.94 \pm 0.93^{\text{ab}}$ | $26.84 \pm 0.81^{\text{abc}}$ | $28.61 \pm 0.80^{\text{d}}$ | $27.12 \pm 0.34^{\text{ab}}$ | $28.02 \pm 0.30^{\text{ad}}$ | $26.06 \pm 0.78^{\text{bc}}$ | $25.59 \pm 0.72^{\text{c}}$  |
| $9 \times 10^{10}$ 粒/L | $26.94 \pm 0.93^{\text{a}}$  | $34.48 \pm 1.02^{\text{bc}}$  | $34.80 \pm 1.51^{\text{b}}$ | $32.98 \pm 0.64^{\text{c}}$  | $29.76 \pm 0.46^{\text{d}}$  | $27.99 \pm 1.09^{\text{ac}}$ | $29.19 \pm 0.53^{\text{de}}$ |
| T-test                 | 1                            | 0.001                         | 0.003                       | 0.000 2                      | 0.005                        | 0.067                        | 0.001                        |
| Sig                    | ns                           | *                             | *                           | *                            | *                            | ns                           | *                            |

注: 不同英文字母表示横向数据差异显著( $P < 0.05$ ), \*代表微塑料组和对照组之间的显著差异( $P < 0.05$ ), ns 代表微塑料组和对照组之间无显著性差异。

表 5 珊瑚 AKP 活性/(U/mg prot)

Tab. 5 AKP activity/(U/mg prot)

| 微塑料浓度                  | 天数/d                    |                         |                         |                         |                         |                         |                         |
|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                        | 0                       | 1                       | 3                       | 7                       | 15                      | 30                      | 50                      |
| 0                      | 2.66±0.05 <sup>ab</sup> | 2.71±0.07 <sup>ac</sup> | 2.67±0.04 <sup>ab</sup> | 2.72±0.06 <sup>ac</sup> | 2.81±0.05 <sup>c</sup>  | 2.72±0.07 <sup>ac</sup> | 2.58±0.06 <sup>b</sup>  |
| 9×10 <sup>10</sup> 粒/L | 2.66±0.05 <sup>a</sup>  | 2.81±0.05 <sup>b</sup>  | 2.17±0.04 <sup>c</sup>  | 2.03±0.05 <sup>d</sup>  | 2.11±0.02 <sup>cd</sup> | 2.13±0.06 <sup>c</sup>  | 2.12±0.07 <sup>cd</sup> |
| T-test                 | 1                       | 0.131                   | 0.000 06                | 0.000 1                 | 0.000 03                | 0.000 4                 | 0.001                   |
| Sig                    | ns                      | ns                      | *                       | *                       | *                       | *                       | *                       |

注: 不同英文字母表示横向数据差异显著( $P<0.05$ ), \*代表微塑料组和对照组之间的显著差异( $P<0.05$ ), ns 代表微塑料组和对照组之间无显著性差异。

后 AKP 活性升高到达峰值(2.81±0.05) U/mg prot, 但与对照组未有显著性差异。随着胁迫时间的延长, 珊瑚 AKP 活性总体变化趋势是逐渐减少, 在多数时间点与对照组差异显著( $P<0.05$ )。

## 2.6 微塑料对珊瑚 ACP 活性的影响

对照组中珊瑚 ACP 活性在 0 到 30 天内各相邻时间点间显示存在显著性差异(表 6), 但最小值(0.62±0.02) U/mg prot 仍远大于添加微塑料后的处理组出现的最大值(0.57±0.02) U/mg prot。处理组添加微塑料后珊瑚 ACP 活性迅速下降, 在第 3 天和第 15 天出现两个谷值, 分别是(0.52±0.02) U/mg prot

和 0.51±0.02 U/mg prot。随时间延长, 各时间点处理组珊瑚 ACP 活性均低于对照组, 存在显著性差异。

## 2.7 微塑料对珊瑚 GST 活性的影响

对照组中珊瑚 GST 活性在最低值(0.81±0.02) U/mg prot 和最高值(0.96±0.02) U/mg prot 间波动(表 7), 在第 15 天出现峰值(0.96±0.02) U/mg prot, 但仍小于添加微塑料后的处理组。处理组添加微塑料后珊瑚 GST 活性迅速上升, 在第 1 天和第 15 天出现两个峰值, 分别是(1.22±0.04) U/mg prot 和(1.33±0.04) U/mg prot, 在各时间点均维持较高水平。随时间延长, 各时间点处理组珊瑚 GST 活性均高于对照组, 存在显著性差异。

表 6 珊瑚 ACP 活性/(U/mg prot)

Tab. 6 ACP activity/(U/mg prot)

| 微塑料浓度                  | 天数/d                   |                         |                         |                        |                        |                         |                        |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|
|                        | 0                      | 1                       | 3                       | 7                      | 15                     | 30                      | 50                     |
| 0                      | 0.69±0.01 <sup>a</sup> | 0.64±0.02 <sup>b</sup>  | 0.71±0.02 <sup>a</sup>  | 0.64±0.02 <sup>b</sup> | 0.68±0.01 <sup>a</sup> | 0.62±0.02 <sup>b</sup>  | 0.64±0.02 <sup>b</sup> |
| 9×10 <sup>10</sup> 粒/L | 0.69±0.01 <sup>a</sup> | 0.54±0.01 <sup>bc</sup> | 0.52±0.02 <sup>bd</sup> | 0.57±0.02 <sup>c</sup> | 0.51±0.02 <sup>d</sup> | 0.55±0.01 <sup>ce</sup> | 0.55±0.01 <sup>c</sup> |
| T-test                 | 1                      | 0.001                   | 0.000 2                 | 0.005                  | 0.000 1                | 0.002                   | 0.003                  |
| Sig                    | ns                     | *                       | *                       | *                      | *                      | *                       | *                      |

注: 不同英文字母表示横向数据差异显著( $P<0.05$ ), \*代表微塑料组和对照组之间的显著差异( $P<0.05$ ), ns 代表微塑料组和对照组之间无显著性差异。

表 7 珊瑚 GST 活性/(U/mg prot)

Tab. 7 GST activity/(U/mg prot)

| 微塑料浓度                  | 天数/d                    |                        |                          |                        |                         |                         |                         |
|------------------------|-------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                        | 0                       | 1                      | 3                        | 7                      | 15                      | 30                      | 50                      |
| 0                      | 0.94±0.03 <sup>ab</sup> | 0.81±0.02 <sup>c</sup> | 0.90±0.02 <sup>abd</sup> | 0.88±0.05 <sup>d</sup> | 0.96±0.02 <sup>ab</sup> | 0.91±0.04 <sup>ad</sup> | 0.89±0.04 <sup>bd</sup> |
| 9×10 <sup>10</sup> 粒/L | 0.94±0.03 <sup>a</sup>  | 1.22±0.04 <sup>b</sup> | 1.08±0.03 <sup>c</sup>   | 1.29±0.03 <sup>d</sup> | 1.33±0.04 <sup>d</sup>  | 1.28±0.04 <sup>d</sup>  | 1.10±0.03 <sup>c</sup>  |
| T-test                 | 1                       | 0.000 07               | 0.001                    | 0.000 2                | 0.000 08                | 0.000 3                 | 0.002                   |
| Sig                    | ns                      | *                      | *                        | *                      | *                       | *                       | *                       |

注: 不同英文字母表示横向数据差异显著( $P<0.05$ ), \*代表微塑料组和对照组之间的显著差异( $P<0.05$ ), ns 代表微塑料组和对照组之间无显著性差异。

## 3 讨论

人类活动对海洋生态系统产生重大影响, 塑料排放成为保护海洋生物多样性的一个关键挑战<sup>[18]</sup>。

已有证据证明微塑料会损害桡足类和螃蟹的摄食能力<sup>[19-20]</sup>, 同时还会导致浅水珊瑚肠腔积聚甚至白化死亡<sup>[21-22]</sup>。本研究, 花环肉芝软珊瑚在微塑料环境胁迫下其表面单位共生藻密度和表面单位叶绿素含

量均会出现短暂的升高,这与 Tang 等<sup>[13]</sup>研究的结果相一致。在长时间胁迫下,共生藻密度与叶绿素含量持续下降,这与微塑料对海洋微藻叶绿素含量和光合效率有负面影响的报道趋于一致<sup>[23-24]</sup>。雷新明<sup>[25]</sup>认为共生藻和叶绿素含量变化是胁迫响应的指示因子,而他提出的叶绿素含量变化会滞后于共生藻密度变化的现象在本研究中并未出现。

此外,免疫系统是负责识别和清除病原生物或物质的宿主防御系统。SOD 和 CAT 作为珊瑚氧化还原系统中的主要抗氧化酶<sup>[11]</sup>,在环境胁迫下对自由基进行清除,这是机体对不良环境的一种适应机制。过度的氧化应激被认为是珊瑚共生系统崩溃的主要诱因<sup>[26]</sup>。本实验结果表明 SOD 和 CAT 活性的升高对维持微塑料急性胁迫后共生系统的稳定性产生影响,共生虫黄藻的密度及叶绿素含量均出现降低。同时,在对 GST 活性测定后发现,作为所有真核生物解毒过程中的关键 II 期代谢酶<sup>[27]</sup>,GST 酶活性也在微塑料胁迫下出现了显著升高并持续维持在高水平状态。已有证据证明如疏水化学物质或添加剂等小分子化学物质进入细胞能够迫使机体免疫系统做出反应<sup>[28]</sup>,实验中聚苯乙烯微塑料中含有的多氯联苯(PCBs)和多环芳烃(PAHs)可能也是导致 SOD, CAT 和 GST 酶活性升高参与免疫反应的因素之一。Tang 等<sup>[13]</sup>在报道中指出微塑料暴露可能会导致 JNK 和 ERK 信号通路受到调节,磷酸化过程受到抑制,本实验中,AKP 与 ACP 酶活性均受到不同程度的抑制,这与 Tang 得出的结论一致。Chapron 等在研究中指出微塑料环境能够影响珊瑚钙化<sup>[29]</sup>,因碱性磷酸酶与钙化存在紧密联系<sup>[30]</sup>,微塑料胁迫对珊瑚骨针的影响也将在今后的实验中进行探索。

## 4 结论

在长时间高浓度微塑料环境胁迫下,花环肉芝软珊瑚未出现死亡个体,触手伸展活力与对照组无显著性差异。但其共生虫黄藻密度与叶绿素含量均出现下降并维持在较低水平,营养供给能力的下降加大了珊瑚感染致病菌甚至白化的可能。同时微塑料环境下珊瑚的 SOD, CAT 和 GST 酶活性均维持在高水平,而 AKP 与 ACP 酶则受到不同程度的抑制,这些生化指标都反映花环肉芝软珊瑚在长时间高浓度微塑料环境胁迫下处于异常状态。本研究对花环肉芝软珊瑚在长时间微塑料环境暴露的生理生化指标进行初步研究,阐明海洋环境遭受微塑料破坏后对珊

瑚的影响,为珊瑚礁生态恢复提供了部分理论依据。

## 参考文献:

- [1] Jambeck J R, Geyer R, Wilcox C, et al. Plastic waste inputs from land into the ocean[J]. *Science*, 2015, 347(6223): 768-771.
- [2] Auta H S, Emenike C U, Fauziah S H. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions[J]. *Environment International*, 2017, 102: 165-176.
- [3] Thompson R C. Microplastics in the marine environment: sources, consequences and solutions[J]. *Marine Anthropogenic Litter*, 2015, 185-200.
- [4] Andrady A L. Microplastics in the marine environment[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62(8): 1596-1605.
- [5] Fok L, Cheung P K. Hong Kong at the Pearl River Estuary: A hotspot of microplastic pollution[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2015, 99: 112-118.
- [6] Browne M A, Crump P, Niven S J, et al. Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(21): 9175-9179.
- [7] Ng K L, Obbard J P. Prevalence of microplastics in Singapore's coastal marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 2006, 52(7): 761-767.
- [8] Lamb J B, Willis B L, Fiorenza E A, et al. Plastic waste associated with disease on coral reefs[J]. *Science*, 2018, 359(6374): 460-462.
- [9] Wright S L, Thompson R C, Galloway T S. The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review[J]. *Environmental Pollution*, 2013, 178: 483-492.
- [10] Hall N M, Berry K L E, Rintoul L, et al. Microplastic ingestion by scleractinian corals[J]. *Marine Biology*, 2015, 162(3): 725-732.
- [11] Levy O, Achituv Y, Yacobi Y Z, et al. The impact of spectral composition and light periodicity on the activity of antioxidant enzymes (SOD and CAT) in the coral *Favia fava*[J]. *Journal of experimental marine and ecology*, 2006, 328: 35-46.
- [12] Teixeira T, Diniz M, Calado R, et al. Coral physiological adaptations to air exposure: Heat shock and oxidative stress responses in *Veretillum cynomorium*[J]. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 2012, 439: 35-41.
- [13] Tang J, Ni X Z, Zhou Z, et al. Acute microplastic exposure raises stress response and suppresses detoxification and immune capacities in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis*[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 243: 66-74.
- [14] Ding J, Jiang F, Li J, et al. Microplastics in the coral

- reef systems from Xisha Islands of South China Sea[J]. Environmental Science and Technology, 2019, 53: 8036-8046.
- [15] 晁华, 申玉春, 刘丽. 氮磷对珊瑚过氧化氢酶和超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 中国农学通报, 2016, 32(17): 12-19.  
Chao Hua, Shen Yuchun, Liu Li. Nitrogen and phosphorus affecting activities of catalase and superoxide dismutase in coral[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2016, 32(17): 12-19.
- [16] 雷新明, 黄晖, 王华接, 等. 升温胁迫对珊瑚及其共生藻影响的初步研究[J]. 热带海洋学报, 2008, 27(5): 55-59.  
Lei Xinming, Huang Hui, Wang Huajie, et al. A preliminary study of effect of elevated temperature stress on three reef corals and their zooxanthellae[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2008, 27(5): 55-59.
- [17] Higuchi T, Yuyama I, Nakamura T. The combined effects of nitrate with high temperature and high light intensity on coral bleaching and antioxidant enzyme activities[J]. Regional Studies in Marine Science, 2015, 2: 27-31.
- [18] Murray F, Cowie P R. Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758)[J]. Marine Pollution Bulletin, 2011, 62(6): 1207-1217.
- [19] Cole M, Lindeque P, Fileman E, et al. The Impact of Polystyrene Microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanushelgolandicus*[J]. Environmental Science and Technology, 2015, 49(2): 1130.
- [20] Watts A J R, Urbina M A, Corr S, et al. Ingestion of plastic microfibers by the crab *Carcinus maenas* and its effect on food consumption and energy balance[J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(24): 14597-14604.
- [21] Hall N M, Berry K L E, Rintoul L, et al. Microplastic ingestion by scleractinian corals[J]. Marine Biology, 2015, 162(3): 725-732.
- [22] Reichert J, Schellenberg J, Schubert P, et al. Responses of reef building corals to microplastic exposure[J]. Environmental Pollution, 2017, 237: 955-960.
- [23] Long M, Paul-Pont I, Hégaret, Hélène, et al. Interactions between polystyrene microplastics and marine phytoplankton lead to species-specific hetero-aggregation[J]. Environmental Pollution, 2017, 228: 454-463.
- [24] Zhang C, Chen X, Wang J, et al. Toxic effects of microplastic on marine microalgae *Skeletonema costatum*: Interactions between microplastic and algae[J]. Environmental Pollution, 2016, 220: 1282-1288.
- [25] 雷新明, 黄晖, 王华接, 等. 造礁石珊瑚共生藻对富营养的响应研究[J]. 海洋通报, 2009, 28(1): 44-49.  
Lei Xinming, Huang Hui, Wang huajie, et al. Study on the responses of the symbiotic zooxanthellae of hermatypic coral to eutrophication[J]. Marine Science Bulletin, 2009, 28(1): 44-49.
- [26] Downs C A, Fauth J E, Halas J C, et al. Oxidative stress and seasonal coral bleaching[J]. Free Radical Biology & Medicine, 2002, 33(4): 533-543.
- [27] Nicosia A, Celi M, Vazzana M, et al. Profiling the physiological and molecular response to sulfonamidic drug in *Procambarusclarkii*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2014, 166: 14-23.
- [28] Teuten E L, Saquing J M, Knappe D R U, et al. Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife[J]. Philosophical Transactions of Royal Society B-biological Sciences, 2009, 364(1526): 2027-2045.
- [29] Chapron L, Peru E, Engler A, et al. Macro- and microplastics affect cold-water corals growth, feeding and behavior[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 15299.
- [30] 刘侠, 乐以伦. 碱性磷酸酶与钙化[J]. 中国生物医学工程学报, 1997, (1): 70-88.  
Liu Xia, Yue Yilun. Alkalinephosphatase and calcification[J]. Chinese journal of biomedical engineering, 1997, (1): 70-88.

# Effects of long-term exposure to microplastics on *Sarcophyton trocheliophorum*

LU Hao<sup>1</sup>, LI Wei-dong<sup>2</sup>, WANG Pei-zheng<sup>2</sup>

(1. Hainan University, Haikou 570228, Hainan; 2. Hainan Tropical marine university, Sanya 572022, Hainan)

**Received:** May 28, 2019

**Key words:** microplastics; *Sarcophyton trocheliophorum*; zooxanthellae; chlorophyll; enzymatic activity

**Abstract:** At present, marine microplastics have serious impacts on marine organisms and human health. To investigate the effect of microplastics on *Sarcophyton trocheliophorum*, which is a common coral in the coastal coral reefs of Hainan Island in China, *S. trocheliophorum* nubbins were exposed to a microplastic environment for a long time, and the density of zooxanthellae, chlorophyll content, and the activity of some key enzymes were determined in this work. The results showed that the density of zooxanthellae began to decrease significantly on the first day, and reached its lowest value  $(1.52 \pm 0.06) \times 10^6$  cell/cm<sup>2</sup> after 15 days microplastic stress ( $P < 0.05$ ). The chlorophyll content decreased significantly within 50 days and reached the lowest value of  $(3.45 \pm 0.35)$  µg/cm<sup>2</sup> on the 50th day. The superoxide dismutase (SOD) activity and catalase (CAT) activity increased significantly within three days and reached the highest value at the third day:  $(34.39 \pm 1.33)$  U/mg prot and  $(34.80 \pm 1.51)$  U/mg prot, respectively. Since then, they began to significantly decline. The glutathione-S-transferase (GST) activity also increased rapidly, with two peak values on the first day and the 15th day:  $(1.22 \pm 0.04)$  U/mg prot and  $1.33 \pm 0.04$  U/mg prot, respectively. However, the acid phosphatase (ACP) and alkaline phosphatase (AKP) activities decreased rapidly. This experiment provides data support for the impact of microplastics environment on coral reefs.

(本文编辑: 赵卫红)