

DOI: 10.19926/j.cnki.issn.1674-232X.2024.02.252

文献引用:张明,金熠杰,张驰,等.微塑料暴露对铜锈环棱螺抗氧化酶活性及肠道微生物组成的影响[J].杭州师范大学学报(自然科学版),2024,23(6):565-571.

ZHANG Ming, JIN Yijie, ZHANG Chi, et al. Impact of microplastic exposure on the antioxidant enzyme activity and intestinal microbiota composition of *Bellamya aeruginosa* [J]. Journal of Hangzhou Normal University(Natural Science Edition), 2024, 23(6):565-571.

## 微塑料暴露对铜锈环棱螺抗氧化酶活性 及肠道微生物组成的影响

张明,金熠杰,张驰,徐逸文,樊岑熠,潘雯静,李嘉腾,陈慧丽,金斌松

(杭州师范大学生命与环境科学学院,浙江杭州 311121)

**摘要:**为揭示微塑料的生态毒性效应,以铜锈环棱螺(*Bellamya aeruginosa*)为模式生物,选择 2 种不同粒径(100 nm 和 10  $\mu$ m)的微塑料进行为期 12 d 的暴露实验,监测铜锈环棱螺内脏团超氧化物歧化酶(SOD)的活性及还原型谷胱甘肽(GSH)与氧化型谷胱甘肽(GSSG)比值的变化,并分析微塑料暴露对其肠道微生物的影响。结果显示,相较于 10  $\mu$ m 微塑料,100 nm 微塑料可显著诱导铜锈环棱螺的 SOD 活性,并持续降低其 GSH/GSSG 比值,造成更为严重的氧化损伤。同时,100 nm 微塑料显著影响了螺肠道微生物群落组成,导致其  $\alpha$  多样性增加、益生菌减少、致病菌增多。可见,微塑料特别是纳米塑料可以破坏铜锈环棱螺的抗氧化防线,改变其肠道微生物群落结构,从而产生潜在的生态毒性作用。

**关键词:**微塑料;铜锈环棱螺;氧化应激;抗氧化酶;肠道微生物

**中图分类号:** X171.5

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1674-232X(2024)06-0565-07

塑料污染作为一个严峻的环境和公共卫生问题,已被列为全球面临的十大新兴问题之一<sup>[1-2]</sup>。人类对塑料制品生产与消费的不断增长,导致了各种大小和组成的塑料碎片在海洋和淡水环境中分布<sup>[3-5]</sup>。释放于环境中的塑料最终会通过环境和生物的协同作用逐步分解成微塑料<sup>[6]</sup>。微塑料是指塑料降解、碎化后粒径小于 5 mm 的微小颗粒<sup>[7]</sup>。不同大小的微塑料颗粒具有不同的物理化学性质,产生不同程度的生物效应。其中,纳米塑料因其小尺寸和高表面活性,被认为可能具有更强的生物风险<sup>[8]</sup>。已有研究表明,微塑料能够通过多种途径进入水生生物体内,并对其正常生理功能产生影响<sup>[9]</sup>。

铜锈环棱螺(*Bellamya aeruginosa*),属腹足纲(Gastropoda)田螺科(Viviparidae)环棱螺属(*Bellamya*),广泛分布于河流、湖泊和湿地等淡水环境中,是淡水生态系统生物群落结构的重要组成部分,可作为潜在的淡水无脊椎模式生物,用于生态毒理学研究<sup>[10-11]</sup>。野外调查和实验室研究均证实其具有

收稿日期:2024-02-25

修回日期:2024-03-21

基金项目:国家自然科学基金项目(31960254);国家重点研发计划项目(2018YFD0900906,2018YFD0900806);杭州师范大学本科生创新能力提升工程项目(CX2023142);杭州师范大学 2023 年星光计划项目。

通信作者:金斌松(1980—),男,副教授,博士,主要从事水生生态学研究。E-mail:jin.binsong@gmail.com

对微米级<sup>[12]</sup>乃至纳米级<sup>[13]</sup>微塑料的积累能力.然而,目前关于微塑料对铜锈环棱螺生态毒理效应的研究还相对有限.

氧化应激是微塑料进入生物体内后可能引起的一种重要毒性效应.微塑料表面可通过直接吸附或诱导机体产生活性氧基团的方式,持续促进氧自由基的形成,导致生物抗氧化防御系统受到破坏<sup>[14]</sup>.微塑料进入生物体内后也可通过刺激炎症反应间接加重氧化损伤<sup>[15]</sup>.在氧化应激状态下,超氧化物歧化酶(SOD)和还原型谷胱甘肽(GSH)成为重要的抗氧化防线,其活性变化能敏感地反映生物体氧化损伤程度<sup>[16]</sup>.此外,微塑料还可改变生物肠道微生物区系,引起菌群失衡<sup>[17]</sup>.肠道微生物群是居住在动物肠道中不同种类细菌的高度密集种群,对宿主健康至关重要,并参与调节宿主的许多生理功能<sup>[18]</sup>,其变化往往与氧化及炎症状态密切相关<sup>[17]</sup>.

因此,本研究选择铜锈环棱螺作为模式生物,系统地评估微塑料暴露对其抗氧化酶活性和肠道微生物组成的影响,旨在揭示微塑料的生态毒理学效应.为了全面探究微塑料的粒径效应,本研究选取 10  $\mu\text{m}$  和 100 nm 2 种粒径的微塑料为实验材料.粒径约为 10  $\mu\text{m}$  的微塑料在环境中广泛分布,并且能够被多种水生生物特别是底栖无脊椎动物摄入和累积<sup>[12,19]</sup>.因此,研究 10  $\mu\text{m}$  微塑料对铜锈环棱螺的影响,可以了解环境中常见微塑料污染对淡水底栖生态系统的潜在风险.100 nm 的微塑料则代表了新兴的纳米塑料污染.尽管目前对纳米塑料的环境分布和浓度还缺乏全面的认识,但越来越多的证据表明,由于其更高的比表面积和生物活性,纳米塑料可能比微米级微塑料具有更强的生物毒性和生态风险<sup>[20-21]</sup>.因此,研究 100 nm 微塑料的生物学效应对于评估和预防纳米塑料污染至关重要.在相同实验条件下比较 10  $\mu\text{m}$  和 100 nm 微塑料对铜锈环棱螺氧化应激和肠道菌群的影响,有助于揭示微塑料的粒径效应,阐明不同尺寸微塑料的毒性差异,为微塑料污染的生态风险评估提供更加全面和针对性的科学依据.

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

从江苏智川科技有限公司购得 2 种粒径(100 nm 和 10  $\mu\text{m}$ )的聚苯乙烯微球作为暴露试剂.为确保实验条件与报道的淡水环境微塑料浓度<sup>[22]</sup>相近,微塑料的质量浓度被设定为 5 mg/L.实验前,将相应质量的聚苯乙烯微球加入曝气后的自来水中,超声分散 20 min 后准确稀释至使用前的目标浓度.

从浙江省湖州市德清县的青鱼养殖场采集实验所需铜锈环棱螺,壳高(2.3 $\pm$ 0.2) cm.正式实验前,在人工气候室内对铜锈环棱螺进行为期 14 d 的适应培养.参考范强等<sup>[23]</sup>的研究结果,选择水深为 15 cm 的圆形玻璃培养缸养殖铜锈环棱螺.严格控制水体温度为(26 $\pm$ 1)  $^{\circ}\text{C}$ ,光照周期为 14 h(光):10 h(暗),养殖密度为 6 个/L,每天投喂适量冰鲜小球藻,每隔 2 d 使用静态置换法更新 1/3 体积的培养用水.

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 微塑料暴露处理

选取新鲜强壮的铜锈环棱螺个体,分别暴露于 100 nm 和 10  $\mu\text{m}$  粒径的聚苯乙烯微球溶液中.每个粒径设 6 组平行实验,每组包含 12 只螺,分别暴露 0、6 和 12 d,其中暴露 0 d 组为空白对照<sup>[24]</sup>.实验持续 12 d,其间记录铜锈环棱螺的生存状况和死亡率.在暴露 6 d 和 12 d 时,从每个实验组中取出 6 只铜锈环棱螺.使用 10 g/L 的  $\text{MgCl}_2$  对螺进行完全麻醉,然后用 75% 的乙醇冲洗螺壳进行消毒.在无菌环境中解剖并提取完整的内脏团及肠道内容物以备后续分析.

#### 1.2.2 氧化酶活性测定

将内脏组织均质化处理,按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:10 的比例,在冰浴中匀浆.接着以 8 000 r/min 在 4  $^{\circ}\text{C}$  下离心 10 min,取上清液并放置在冰上待测.使用氧化损伤试剂盒(购自北京索莱宝生物科技有限公司),按照说明书操作,测定 SOD、GSH 和氧化型谷胱甘肽(GSSG)等多种反映机体氧化应激效应的指标.

### 1.2.3 肠道微生物组成分析

将各处理组中 3 只螺的肠道内容物混合成 1 管作为 1 个平行实验,使用 CHAO 法<sup>[25]</sup>提取肠道内容物基因组 DNA.通过琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计法检测 DNA 的质量和浓度.在 DNA 质量检测合格后,设计针对细菌 16S rRNA 基因 V3V4 区域的引物(F:5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3';R:5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')用于 PCR 扩增.扩增后的 DNA 经过纯化和浓度检测,采用 Illumina 平台进行文库构建和双端测序.对测序原始数据进行质量控制、去噪、拼接和去嵌合体等预处理.使用 QIIME2 软件计算每个样品的  $\alpha$  多样性指数(Chao1 指数、Observed species 指数、Simpson 指数和 Shannon 指数),采用 Kruskal-Wallis 检验评估各分类水平  $\alpha$  多样性指数和肠道微生物组成的组间差异.

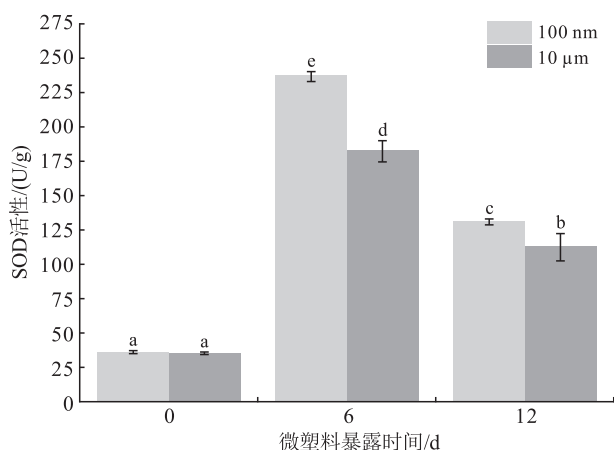
### 1.3 数据处理与分析

数据统计分析采用 SPSS 26.0 软件进行.采用 Shapiro-Wilk 检验评估数据分布的正态性.符合正态分布的数据采用单因素方差分析(ANOVA),然后进行 Tukey 事后检验;非正态分布的数据采用 Kruskal-Wallis H 检验,然后进行 Dunn 事后检验. $P < 0.05$  认定为有统计学意义.所有结果以平均值  $\pm$  标准差表示.

## 2 结果与分析

### 2.1 微塑料暴露对铜锈环棱螺内脏团 SOD 活性的影响

实验结果显示,与暴露 0 d 组相比,微塑料暴露后,铜锈环棱螺内脏团 SOD 活性均出现先上调后下降的变化趋势(图 1).在暴露 12 d 时,各微塑料处理组 SOD 活性仍显著高于暴露 0 d 组,提示微塑料暴露可显著诱导 SOD 活性.具体而言:相较于暴露 0 d 组,100 nm 和 10  $\mu$ m 微塑料处理组在暴露 6 d 时分别诱导 SOD 活性上升约 555% 和 405%;暴露 12 d 时,处理组的 SOD 活性增幅分别为 263% 和 212%.该现象表明,微塑料初始暴露可通过氧化应激反应明显激活铜锈环棱螺的 SOD 活性,但随着时间推移,持续的微塑料毒性作用可能会导致 SOD 活性逐渐下降.



注:各处理间无相同字母表示具统计学意义( $P < 0.05$ ),下同.

图 1 不同粒径微塑料对铜锈环棱螺内脏团 SOD 活性的影响

Fig. 1 Impact of microplastics with different particle sizes on SOD activity in the visceral mass of *B. aeruginosa*

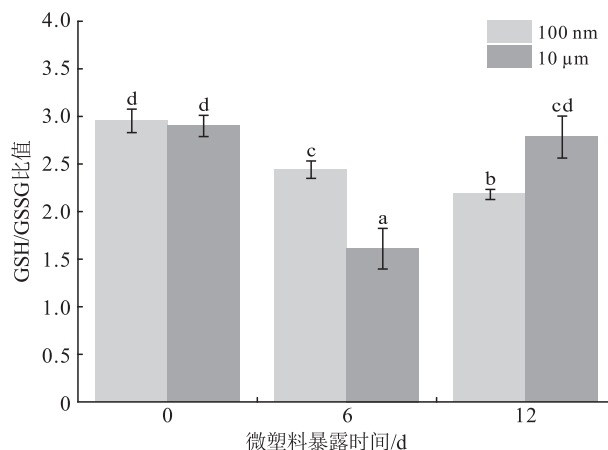


图 2 不同粒径微塑料对铜锈环棱螺内脏团

GSH/GSSG 比值的影响

Fig. 2 Impact of microplastics with different particle sizes on the GSH/GSSG ratio in the visceral mass of *B. aeruginosa*

### 2.2 微塑料暴露对铜锈环棱螺内脏团 GSH/GSSG 比值的影响

图 2 结果显示,不同粒径微塑料暴露对铜锈环棱螺内脏团 GSH/GSSG 比值的影响呈现不同的变化趋势:100 nm 处理组 GSH/GSSG 比值持续下降,而 10  $\mu$ m 处理组先下降后上调.相较于暴露 0 d 组,所有处理组在暴露 6 d 时 GSH/GSSG 比值均显著降低,100 nm 和 10  $\mu$ m 组分别下降 11% 和 45%.但在暴露 12 d 时,100 nm 组比值继续下降 12%,10  $\mu$ m 组则回升至暴露 0 d 组水平.该结果表明,不同粒径微塑料可能通过不同途径和机制影响铜锈环棱螺的内源抗氧化系统.

### 2.3 100 nm 微塑料暴露对铜锈环棱螺肠道微生物组成的影响

前期实验结果明确显示,相较于微米级微塑料,纳米级微塑料颗粒对铜锈环棱螺抗氧化防御系统造成了更显著和持久的危害,表明其具有更强的生物毒性作用.基于此,本研究进一步探究 100 nm 微塑料颗粒对铜锈环棱螺肠道微生物的影响,以期评估纳米塑料的环境风险提供更有力的证据.

由表 1 可见,在暴露 12 d 后,相较于暴露 0 d 组,铜锈环棱螺肠道微生物群的  $\alpha$  多样性显著增加.进一步的分类分析揭示,变形菌门(Proteobacteria)(54.64%±1.44%)、拟杆菌门(Bacteroidetes)(33.55%±0.62%)和厚壁菌门(Firmicutes)(10.59%±1.90%)是铜锈环棱螺肠道微生物中占主导地位的门类(图 3a).在暴露 12 d 内,变形菌门的相对丰度先升后降,而拟杆菌门和厚壁菌门的相对丰度则持续下降.具体而言:暴露 6 d 时变形菌门的相对丰度增加 26.44%( $P<0.05$ ),暴露 12 d 时回落至暴露 0 d 组水平;而拟杆菌门和厚壁菌门的相对丰度在暴露 12 d 时分别下降 79.08%和 66.63%( $P<0.05$ ).这些结果提示 100 nm 微塑料暴露对铜锈环棱螺肠道微生物组成产生了显著影响.

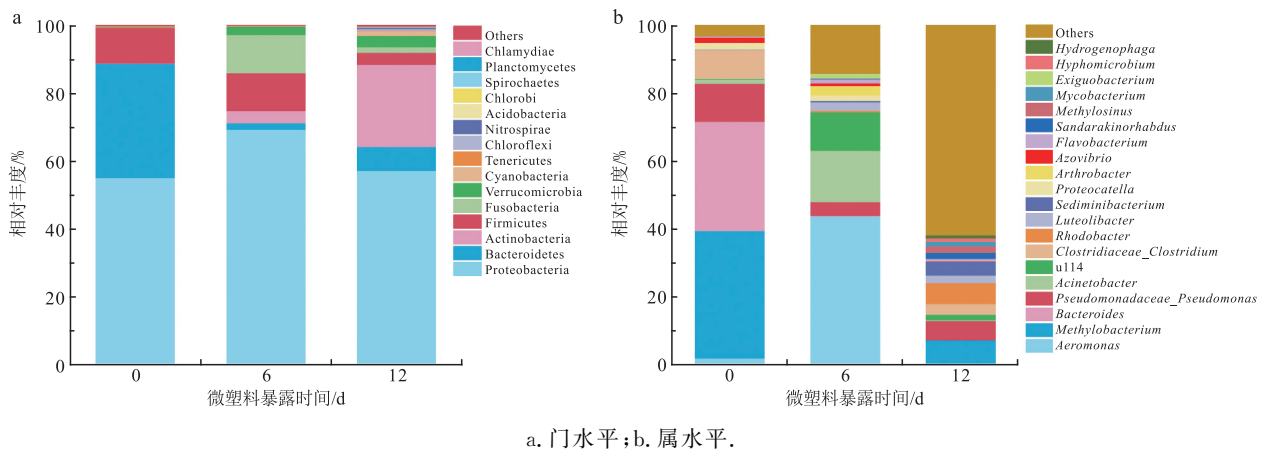
表 1 不同纳米塑料暴露时间下铜锈环棱螺肠道微生物的  $\alpha$  多样性指数

Tab. 1 Alpha diversity indexes of intestinal microbiota in *B. aeruginosa* exposed to nano-plastics for different durations

微塑料暴露时间/d	物种丰富度		物种多样性	
	Chao1 指数	Observed species 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
0	415.99±63.67 <sup>a</sup>	465.90±19.00 <sup>a</sup>	2.65±0.52 <sup>a</sup>	0.71±0.01 <sup>a</sup>
6	628.00±68.84 <sup>ab</sup>	572.82±63.42 <sup>ab</sup>	5.14±0.20 <sup>ab</sup>	0.94±0.01 <sup>ab</sup>
12	1 140.91±309.20 <sup>b</sup>	1 103.40±324.34 <sup>b</sup>	6.67±0.75 <sup>b</sup>	0.96±0.03 <sup>b</sup>

注:表中同一列数据右上角相同字母表示不具统计学意义( $P>0.05$ ),不同字母表示具统计学意义( $P<0.05$ ).

进一步对铜锈环棱螺肠道微生物群进行属水平分析(图 3b),发现一些有益细菌属如拟杆菌属(*Bacteroides*)的相对丰度持续显著降低( $P<0.01$ ,暴露 0 d 组:32.175 30%±0.141 73%;暴露 6 d 组:0.172 10%±0.000 74%;暴露 12 d 组:0.000 40%±0.000 02%).与此相反,一些具传染性的致病菌属如分枝杆菌属(*Mycobacterium*)的相对丰度持续显著升高( $P<0.01$ ,暴露 0 d 组:0.009 10%±0.000 02%;暴露 6 d 组:0.112 40%±0.005 15%;暴露 12 d 组:1.331 80%±0.077 34%).以上结果说明微塑料暴露造成了肠道微环境中益生菌减少、致病菌增多的趋势.



a. 门水平; b. 属水平.

图 3 不同纳米塑料暴露时间下铜锈环棱螺肠道微生物组成

Fig. 3 Composition of intestinal microbiota in *B. aeruginosa* exposed to nano-plastics for different durations

## 3 讨论

SOD 是一种关键的抗氧化酶,它能够迅速将超氧阴离子转化为过氧化氢,是氧化应激的首要防御机制;GSH 则是细胞内的重要抗氧化分子,其与 GSSG 的比值能够反映抗氧化能力,是评估氧化应激的重要

指标<sup>[26]</sup>. 监测 SOD 活性和 GSH/GSSG 比值的变化趋势,可以评估微塑料对铜锈环棱螺氧化应激防线的破坏程度.

研究结果表明,微塑料暴露显著影响了铜锈环棱螺的 SOD 活性. 初始阶段,微塑料进入螺体内可激活 SOD 活性以对抗氧化应激,然而随着时间的推移,持续的微塑料暴露导致 SOD 活性下降. 这可能是因为长期暴露导致微塑料在组织器官表面大量吸附,持续产生氧自由基,使得抗氧化系统逐渐失效<sup>[27]</sup>. 100 nm 处理组引起的 SOD 活性变化总体更为剧烈,其在暴露 6 d 时的活性增幅是 10  $\mu\text{m}$  组的 1.4 倍,暴露 12 d 时的 SOD 活性仍高于 10  $\mu\text{m}$  组. 这可能与纳米塑料更高的生物活性和毒性有关,纳米塑料更容易穿过生物屏障,进入组织和细胞内部,与目标器官接触<sup>[28]</sup>. 同时,GSH/GSSG 比值的变化也反映出微塑料粒径的差异性影响. 暴露的初始阶段,微塑料引发氧化应激反应,通过消耗 GSH 来降低比值. 随着暴露时间延长,10  $\mu\text{m}$  微塑料的毒性作用可能达到瓶颈,抗氧化系统适应性调节,合成更多 GSH 来对抗氧化损伤,使比值回升<sup>[15]</sup>. 100 nm 微塑料颗粒由于其更高的生物活性,能够持续产生氧自由基,从而消耗 GSH,抑制其合成,维持比值下降的趋势<sup>[29-30]</sup>.

肠道微生物群是一个复杂且动态的系统,具有高度的可变性和环境适应性,因此在生态毒理学研究中具有重要价值<sup>[31]</sup>. 本研究结果显示,纳米塑料显著改变了铜锈环棱螺肠道微生物群落结构,表现为  $\alpha$  多样性增加、益生菌减少及致病菌增多. 这进一步为 SOD 和 GSH/GSSG 比值的变化提供了证据,因为微生物群落失衡会导致肠道屏障功能减弱,增加氧化应激和炎症反应,从而影响抗氧化酶活性<sup>[32-33]</sup>. 具体来看,随着暴露时间延长至 12 d,铜锈环棱螺肠道菌群的  $\alpha$  多样性显著增加,表明 100 nm 微塑料诱导了肠道菌群组成的改变,这与对青鳉鱼的研究结果<sup>[34]</sup>类似. 拟杆菌门是肠道微生物群中维持宿主健康状态和复杂稳态的主要参与者<sup>[35]</sup>,厚壁菌门与宿主的营养吸收密切相关<sup>[36]</sup>. 在本研究中,纳米塑料暴露导致铜锈环棱螺肠道厚壁菌门和拟杆菌门丰度显著降低,进一步提示其对铜锈环棱螺肠道微生物群的强烈不良影响. 更为严重的是,大多数益生菌(如拟杆菌属)的相对丰度显著减少,而某些致病菌(如分枝杆菌属)的相对丰度显著增加. 这可能是因为纳米塑料颗粒的物理化学性质能够改变微环境的 pH 和营养物质,从而影响了菌群间的生存竞争<sup>[37]</sup>. 一些致病菌对环境污染的适应性更强,更擅长定植于微塑料表面并利用微环境的改变进行繁殖<sup>[38]</sup>. 而益生菌的减少削弱了肠道屏障,为致病菌进入组织内定居、释放胞外产物并启动感染提供了机会<sup>[39]</sup>. 此外,拟杆菌属等益生菌通过代谢多糖和寡糖来维护肠道屏障的完整性<sup>[40]</sup>,当它们的丰度下降时,会导致肠道通透性增加,使得肠源性毒素和氧化产物进入体内循环,从而损害肝肾等脏器的抗氧化酶系统<sup>[41-42]</sup>. 当分枝杆菌属等致病菌的丰度上升时,可能损伤肠道组织,并激活炎症反应造成氧化应激<sup>[43-44]</sup>. 因此,纳米塑料导致的肠道微生物失衡可复合作用于肠道和全身,加重氧化应激状态,并最终影响抗氧化酶的活性水平<sup>[44-45]</sup>.

综上所述,相较于 10  $\mu\text{m}$  微塑料颗粒,100 nm 微塑料因其较高的生物活性和更深层的组织渗透性,对铜锈环棱螺造成了更严重的氧化损伤,并主要表现在 SOD 活性及 GSH/GSSG 比值的剧烈变化上. 100 nm 微塑料颗粒还显著扰乱了螺肠道微生物的群落结构,如降低益生菌水平、提高致病菌水平,从而进一步削弱了肠道屏障,导致氧化应激的增强. 因此,100 nm 微塑料颗粒对铜锈环棱螺的生理系统造成了更严重和持久的影响. 上述发现为评估不同粒径微塑料的潜在生态危害提供了关键依据,并提示需要重点关注和防治环境中的纳米塑料污染.

#### 参考文献:

- [1] PENG J P, WANG J D, CAI L Q. Current understanding of microplastics in the environment: occurrence, fate, risks, and what we should do[J]. Integr Environ Assess Manag, 2017, 13(3): 476-482.
- [2] MACLEOD M, ARP H P H, TEKMAN M B, et al. The global threat from plastic pollution[J]. Science, 2021, 373(6550): 61-65.
- [3] WALKER T R, FEQUET L. Current trends of unsustainable plastic production and micro(nano)plastic pollution[J]. TrAC, 2023, 160: 116984.
- [4] LI P H, WANG X D, SU M, et al. Characteristics of plastic pollution in the environment: a review[J]. Bull Environ Contam Toxicol,

- 2021,107(4):577-584.
- [5] THUSHARI G G N, SENEVIRATHNA J D M. Plastic pollution in the marine environment[J]. *Heliyon*,2020,6(8):e04709.
- [6] ZHANG K, HAMIDIAN A H, TUBIĆA, et al. Understanding plastic degradation and microplastic formation in the environment: a review[J]. *Environ Pollut*,2021,274:116554.
- [7] THOMPSON R C, OLSEN Y, MITCHELL R P, et al. Lost at sea: Where is all the plastic?[J]. *Science*,2004,304(5672):838.
- [8] MATTSSON K, HANSSON L A, CEDERVALL T. Nano-plastics in the aquatic environment[J]. *Environ Sci Processes Impacts*,2015,17(10):1712-1721.
- [9] ANBUMANI S, KAKKAR P. Ecotoxicological effects of microplastics on biota: a review[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*,2018,25(15):14373-14396.
- [10] LIU X, CHEN Q W, ALI N, et al. Single and joint oxidative stress-related toxicity of sediment-associated cadmium and lead on *Bellamya aeruginosa* [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*,2019,26(24):24695-24706.
- [11] BAO S P, HUANG J L, LIU X W, et al. Tissue distribution of Ag and oxidative stress responses in the freshwater snail *Bellamya aeruginosa* exposed to sediment-associated Ag nanoparticles[J]. *Sci Total Environ*,2018,644:736-746.
- [12] AN L H, CUI T F, ZHANG Y, et al. A case study on small-size microplastics in water and snails in an urban river[J]. *Sci Total Environ*,2022,847:157461.
- [13] LUO B X, LI J M, WANG M, et al. Chronic toxicity effects of sediment-associated polystyrene nanoplastics alone and in combination with cadmium on a keystone benthic species *Bellamya aeruginosa* [J]. *J Hazard Mater*,2022,433:128800.
- [14] HU M Y, PALIĆ D A. Micro- and nano-plastics activation of oxidative and inflammatory adverse outcome pathways[J]. *Redox Biol*,2020,37:101620.
- [15] SOLOMANDO A, CAPÓ X, ALOMAR C, et al. Long-term exposure to microplastics induces oxidative stress and a pro-inflammatory response in the gut of *Sparus aurata* Linnaeus,1758[J]. *Environ Pollut*,2020,266(Pt 1):115295.
- [16] IGHODARO O M, AKINLOYE O A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire antioxidant defence grid[J]. *Alex J Med*,2018,54(4):287-293.
- [17] SOUZA-SILVA T G, OLIVEIRA I A, SILVA G G D, et al. Impact of microplastics on the intestinal microbiota: a systematic review of preclinical evidence[J]. *Life Sci*,2022,294:120366.
- [18] BHATTACHARJEE G, KHAMBHATI K, GOHIL N, et al. Gut microbiota in gastrointestinal diseases[J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*,2022,191(1):141-151.
- [19] AKOUESON F, SHELDON L M, DANOPOULOS E, et al. A preliminary analysis of microplastics in edible versus non-edible tissues from seafood samples[J]. *Environ Pollut*,2020,263(Pt A):114452.
- [20] GIGAULT J, EL HADRI H, NGUYEN B, et al. Nanoplastics are neither microplastics nor engineered nanoparticles [J]. *Nat Nanotechnol*,2021,16(5):501-507.
- [21] MAHENDRAN R, RAMASWAMY S N. Nanoplastics as Trojan horses: deciphering complex connections and environmental ramifications: a review[J/OL]. *Chem Afr*,2024.[2024-02-20]. <https://doi.org/10.1007/s42250-023-00865-3>.
- [22] LI C R, BUSQUETS R, CAMPOS L C. Assessment of microplastics in freshwater systems: a review[J]. *Sci Total Environ*,2020,707:135578.
- [23] 范强,陶秉春,王博,等. 铜锈环棱螺室内实验条件优化[J]. *生态毒理学报*,2015,10(3):200-208.
- [24] MA T W, GONG S J, TIAN B. Effects of sediment-associated CuO nanoparticles on Cu bioaccumulation and oxidative stress responses in freshwater snail *Bellamya aeruginosa* [J]. *Sci Total Environ*,2017,580:797-804.
- [25] GERASIMIDIS K, BERTZ M, QUINCE C, et al. The effect of DNA extraction methodology on gut microbiota research applications [J]. *BMC Res Notes*,2016,9:365.
- [26] LIMÓN-PACHECO J, GONSEBATT M E. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress[J]. *Mutat Res*,2009,674(1/2):137-147.
- [27] LIN W, JIANG R F, HU S Z, et al. Investigating the toxicities of different functionalized polystyrene nanoplastics on *Daphnia magna* [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*,2019,180:509-516.
- [28] SHEN M C, ZHANG Y X, ZHU Y, et al. Recent advances in toxicological research of nanoplastics in the environment: a review[J]. *Environ Pollut*,2019,252(Pt A):511-521.
- [29] IM G B, KIM Y G, JO I S, et al. Effect of polystyrene nanoplastics and their degraded forms on stem cell fate[J]. *J Hazard Mater*,2022,430:128411.
- [30] LIN S Y, ZHANG H N, WANG C, et al. Metabolomics reveal nanoplastic-induced mitochondrial damage in human liver and lung cells [J]. *Environ Sci Technol*,2022,56(17):12483-12493.

- [31] EVARISTE L, BARRET M, MOTTIER A, et al. Gut microbiota of aquatic organisms: a key endpoint for ecotoxicological studies [J]. *Environ Pollut*, 2019, 248: 989-999.
- [32] QIAO R X, SHENG C, LU Y F, et al. Microplastics induce intestinal inflammation, oxidative stress, and disorders of metabolome and microbiome in zebrafish [J]. *Sci Total Environ*, 2019, 662: 246-253.
- [33] JIN Y X, LU L, TU W Q, et al. Impacts of polystyrene microplastic on the gut barrier, microbiota and metabolism of mice [J]. *Sci Total Environ*, 2019, 649: 308-317.
- [34] KANG H M, BYEON E, JEONG H, et al. Different effects of nano- and microplastics on oxidative status and gut microbiota in the marine medaka *Oryzias melastigma* [J]. *J Hazard Mater*, 2021, 405: 124207.
- [35] GIBIINO G, LOPETUSO L R, SCALDAFERRI F, et al. Exploring Bacteroidetes: metabolic key points and immunological tricks of our gut commensals [J]. *Dig Liver Dis*, 2018, 50(7): 635-639.
- [36] BROWNE H P, ALMEIDA A, KUMAR N, et al. Host adaptation in gut Firmicutes is associated with sporulation loss and altered transmission cycle [J]. *Genome Biol*, 2021, 22(1): 204.
- [37] XIAO M L, DING J N, LUO Y, et al. Microplastics shape microbial communities affecting soil organic matter decomposition in paddy soil [J]. *J Hazard Mater*, 2022, 431: 128589.
- [38] JUNAID M, SIDDIQUI J A, SADAF M, et al. Enrichment and dissemination of bacterial pathogens by microplastics in the aquatic environment [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 830: 154720.
- [39] 张萌萌, 姜宁, 张爱忠. 肠道微生物对肠道屏障功能完整性的维护机制研究概况 [J]. *微生物学通报*, 2020, 47(3): 933-940.
- [40] ZAFAR H, SAIER M H, Jr. Gut *Bacteroides* species in health and disease [J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1-20.
- [41] HOROWITZ A, CHANEZ-PAREDES S D, HAEST X, et al. Paracellular permeability and tight junction regulation in gut health and disease [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2023, 20(7): 417-432.
- [42] WANG Y J, CHEN Y, ZHANG X Y, et al. New insights in intestinal oxidative stress damage and the health intervention effects of nutrients: a review [J]. *J Funct Foods*, 2020, 75: 104248.
- [43] ROLHION N, CHASSAING B. When pathogenic bacteria meet the intestinal microbiota [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2016, 371(1707): 20150504.
- [44] LI Z L, FENG C H, PANG W, et al. Nanoplastic-induced genotoxicity and intestinal damage in freshwater benthic clams (*Corbicula fluminea*): comparison with microplastics [J]. *ACS Nano*, 2021, 15(6): 9469-9481.
- [45] WANG K W, ZHU L Y, RAO L, et al. Nano- and micro-polystyrene plastics disturb gut microbiota and intestinal immune system in honeybee [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 842: 156819.

## Impact of Microplastic Exposure on the Antioxidant Enzyme Activity and Intestinal Microbiota Composition of *Bellamya aeruginosa*

ZHANG Ming, JIN Yijie, ZHANG Chi, XU Yiwen, FAN Cenyi,  
PAN Wenjing, LI Jiateng, CHEN Huili, JIN Binsong

(College of Life and Environmental Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou 311121, China)

**Abstract:** In order to reveal the ecotoxic effects of microplastics, *Bellamya aeruginosa* was selected as the model organism, and two kinds of microplastics with different particle sizes (100 nm and 10  $\mu$ m) were selected for a 12-day exposure experiment. The activity of superoxide dismutase (SOD) and the reduced to oxidized glutathione ratio (GSH/GSSG) in the visceral mass were monitored, and the impacts of microplastic exposure on the intestinal microbiota were analyzed. The results showed that compared with 10  $\mu$ m microplastics, 100 nm microplastics could significantly induce SOD activity and continuously reduce the GSH/GSSG ratio, resulting in more serious oxidative damage. At the same time, 100 nm microplastics significantly affected the intestinal microbial community composition, resulting in an increase in  $\alpha$  diversity, a decrease in probiotics, and an increase in pathogenic bacteria. It can be seen that microplastics, especially nano-plastics, can destroy the antioxidant defense line and change the structure of intestinal microbial community in *B. aeruginosa*, thus producing potential ecotoxic effects.

**Key words:** microplastics; *Bellamya aeruginosa*; oxidative stress; antioxidant enzymes; intestinal microbiota