

菲对日本虎斑猛水蚤摄食、生长发育和繁殖的影响*

李连旭, 王军**, 李旋, 王东, 汝少国

(中国海洋大学海洋生命学院, 山东 青岛 266003)

摘要: 为探究多环芳烃(Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)污染对海洋桡足类的毒性效应,本研究以日本虎斑猛水蚤(*Tigriopus japonicus*)为受试生物,选取菲(Phenanthrene, Phe)作为 PAHs 的代表开展暴露试验。急性毒性试验测得 Phe 对日本虎斑猛水蚤的 96 h 半数致死浓度为 3.675 mg/L。慢性试验显示,5、50 和 500 $\mu\text{g/L}$ Phe 暴露降低了日本虎斑猛水蚤的比生长速率、延长了从无节幼体发育到成体的时间,并且显著降低了挂卵率;50 $\mu\text{g/L}$ Phe 暴露降低了总产幼数量、延长了卵囊发育时间,而在 500 $\mu\text{g/L}$ Phe 暴露组则未出现挂卵现象,导致生殖失败。将 5 和 50 $\mu\text{g/L}$ Phe 暴露后雌蚤产出的 F1 子代在清水中培养,它们的发育时间也出现显著延迟。此外,50 和 500 $\mu\text{g/L}$ Phe 显著降低了日本虎斑猛水蚤的摄食率和滤水率,而呼吸率在各暴露组均出现显著下降。可见,Phe 会对日本虎斑猛水蚤的摄食、生长、繁殖,以及子代发育造成明显的毒性效应。本研究可为评价 PAHs 对海洋浮游动物的生态风险提供数据支持。

关键词: 日本虎斑猛水蚤; 菲; 摄食; 生长发育; 繁殖

中图分类号: X55

文献标志码: A

文章编号: 1672-5174(2022)03-080-08

DOI: 10.16441/j.cnki.hdxh.20210136

引用格式: 李连旭, 王军, 李旋, 等. 菲对日本虎斑猛水蚤摄食、生长发育和繁殖的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2022, 52(3): 80-87.

Li Lianxu, Wang Jun, Li Xuan, et al. Effects of phenanthrene on feeding, growth and reproduction of *Tigriopus japonicus* [J]. Periodical of Ocean University of China, 2022, 52(3): 80-87.

多环芳烃(Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是指由两个或两个以上苯环组成的有机化合物,具有致癌、致畸、致突变和难降解等特性,一直以来都是环境科学领域备受关注的一类污染物^[1-2]。PAHs 在水体、沉积物和生物体内被广泛检出,并且低环 PAHs 占主导地位^[3-5]。Yu 等^[6]发现二环和三环 PAHs 是中国七条主要河流 PAHs 污染的主要组分,其中三环的菲(Phenanthrene, Phe)被认定为需要优先控制的一种 PAHs。Phe 在中国海水与地表水中的浓度通常在 50 ng/L~26.1 $\mu\text{g/L}$ 之间^[7-8],如九龙江河口、闽江河口、珠江澳门水域和长江口表层水体中 Phe 的浓度分别为 1 370、1 700、101.8 和 91.73 ng/L^[9-13]。鉴于 Phe 的高检出率与高环境浓度,它常被作为 PAHs 的代表,用于研究此类污染物对海洋生物的毒性效应^[14-15]。

萘、菲、荧蒽和苯并[a]芘对大型蚤(*Daphnia magna*)的 24 h 半数致死浓度(LC₅₀)分别为 5.485、3.226、0.295 和 0.004 1 mg/L;0.4 mg/L 的 Phe 暴露

会对大型蚤的体长、产卵时间与初次产卵时间产生显著影响^[16]。1,2-二甲基萘和芘对火腿伪镖水蚤(*Pseudodiaptomus poplesia*)的 96 h LC₅₀ 分别为 788.98 和 54.68 $\mu\text{g/L}$ ^[17]。Hung 等^[18]调查表明台湾高平海域浮游动物体内 PAHs 含量在 5~5 440 ng/L (干质量),其中 Phe 是最主要的化合物,占总 PAHs 的 10.5%。Yoshinori 等^[19]表明短时间内苯并[a]芘会对浮游动物的丰度和群落结构产生影响。由于海洋浮游动物占据着重要的生态学地位,所以急需拓展相关污染物对浮游动物的毒性效应研究。

海洋桡足类是海洋次级生产力的主要组成部分,在海洋生态系统的物质循环和能量流动中起重要作用^[20-21]。日本虎斑猛水蚤(*Tigriopus japonicus*)是一种广泛分布于西太平洋近岸的底栖桡足类^[22],在实验室内易于培养、世代周期短、对污染物敏感,已被用作海洋污染物毒性测试的标准生物^[23-24]。本研究选择日本虎斑猛水蚤为受试生物开展 Phe 的毒性效应研究。首先,测定了 Phe 对日本虎斑猛水蚤 96 h 的 LC₅₀。随

* 基金项目:国家重点研究发展计划项目(2018YFC1407603);中央高校基本科研业务费项目(201964025)资助

Supported by the National Key Research and Development Program(2018YFC1407603);the Fundamental Research Funds for the Central Universities(201964025)

收稿日期:2021-03-30; 修订日期:2021-04-30

作者简介:李连旭(1996—),男,硕士生,主要从事污染物水质基准研究。E-mail: 17854256782@163.com

** 通讯作者:E-mail: wangjun@ouc.edu.cn

后,利用不同浓度的 Phe 开展全生命周期暴露,从摄食率、发育周期、持续产幼量与卵囊发育时间等多个指标综合探究了 Phe 对日本虎斑猛水蚤的摄食、生长发育和繁殖能力的潜在危害,以期评估 PAHs 对海洋浮游动物的生态风险提供基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料和实验生物

菲(Phe, CAS NO.: 85-01-8, 纯度 99.9%)购自 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司(奥格斯堡, 德国),二甲亚砜(DMSO, CAS NO.: 67-68-5, 纯度 99.5%)购于 Sigma-Aldrich 公司(上海, 中国)。将 5 mg Phe 溶于 1 mL DMSO 制备成 5 mg/mL 的储液,常温下避光保存,每周更新一次。

本研究所用的日本虎斑猛水蚤已在实验室内连续培养了数代,在光照培养箱培养,条件为温度(21±2)℃,光暗比 12 h:12 h。培养所用海水经 0.45 μm 滤膜过滤后灭菌,培养盐度为 29±1。每天投喂 1×10^5 cells/mL 青岛大扁藻(*Platymonas helgolandica*),并清除培养器皿底部沉降的饵料、粪便和尸体等残渣。

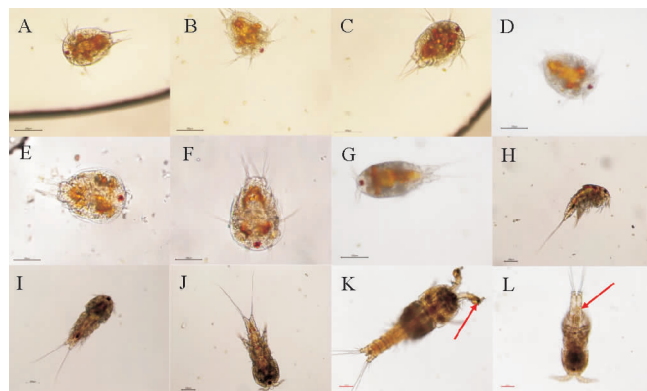
1.2 生物毒性实验

1.2.1 急性毒性实验 参照国标《GB/T 13266-91 水质 物质对蚤类(大型蚤)急性毒性测定方法》进行。设置空白对照组、溶剂对照组,以及 2.0、2.8、3.9、5.4、7.4、10.4、14.4 mg/L Phe 暴露组,共 9 组。每个组挑选 20 只孵化时间小于 24 h 的日本虎斑猛水蚤无节幼体,持续暴露 96 h,期间投喂青岛大扁藻作为饵料,浓度为 1×10^5 cells/mL。暴露体系为 5 mL,所有实验组中的 DMSO 浓度均不高于 0.1‰,每组设置 3 个平行。每 24 h 更新一次暴露液,并观察日本虎斑猛水蚤的状况,通过反复转动试验容器,以 15 s 内失去活动能力视为死亡,根据概率单位分析方法计算 96 h 的 LC_{50} ^[25]。

1.2.2 比生长速率 根据急性毒性实验结果设置 Phe 的慢性暴露浓度分别为 0、5、50、500 μg/L,挑选孵化 24 h 以内的无节幼体开展暴露实验。实验在六孔板中进行,每孔放置 10 只无节幼体,每个实验组设置 3 个平行,所有实验组中的 DMSO 浓度均不高于 0.1‰,实验过程中水质等条件与养殖过程相同。实验期间每天更换暴露液,并从各组随机选取 6 只日本虎斑猛水蚤,在显微镜下观察拍照,用 S-gauge 测量,记录体长、体宽,根据公式 $g = [\ln(l_t) - \ln(l_0)]/t$,计算生长速率(g),式中: l_t 表示培养当天的日本虎斑猛水蚤体长, l_0 表示初始的无节幼体体长, t 表示培养的天数。

1.2.3 发育时期 在实验前一天挑选带红褐色卵的雌性个体($n=100$)于六孔板中培养,以保证实验所需的

无节幼体均为同一时间段孵化。挑选新出生的 F0 代无节幼体(<24 h)于 12 孔板中,每孔 1 只,每个实验组 20 个重复,暴露体系为 4 mL,喂食和换液方式同 1.2.1。每天在解剖镜下观察无节幼体的发育情况,记录各组从无节幼体至桡足幼体(N~C)、桡足幼体至成体(C~A)的发育时间。各时期虫体的判断标准为:无节幼体虫体腹部出现分节表示发育到桡足幼体期,而雄性触角特化为执握器、雌性生殖节愈合或挂卵表示发育到成体(见图 1)。



(A~F, 无节幼体时期 Nauplius stages; G~J, 为桡足幼体期 Copepodid stages; K, 雄性成体(箭头所示为特化成的执握器)。Adult males (The arrow shows the specialized clasper); L, 雌性成体(箭头所示为愈合生殖节)。Adult females (The arrow shows the genital segments).)

图 1 不同发育时期日本虎斑猛水蚤的形态特征

Fig.1 Morphological characteristics of *Tigriopus japonicus* at different developmental periods

1.2.4 总产幼数与卵囊发育时间 待日本虎斑猛水蚤发育至性成熟后,从各组收集雌体,在相同的 Phe 浓度下继续暴露,观察并记录日本虎斑猛水蚤 10 d 内的卵囊发育情况和产幼数量,以及卵囊发育时间(从挂卵孵化到下一次挂卵的时间)。

收集各组第三批新出生的 F1 代无节幼体(<24 h),转移至不含有 Phe 的清水中孵育,培养方式同上。统计 F1 代无节幼体(N)发育到桡足幼体期(C)和成体期(A)所需的时间。

1.2.5 摄食率、滤水率与呼吸率 在 100 mL 的密闭塑料瓶中配置含有 0、5、50、500 μg/L Phe 和 1×10^5 cells/mL 青岛大扁藻液的培养体系。向每个瓶中投放 30 只饥饿了 24 h 的无节幼体,置于黑暗中持续暴露 24 h。同时,设置溶剂对照组和藻类对照组(无桡足类),以表示微藻在无捕食条件下的正常生长情况,每个浓度设置 3 个平行。实验结束后,首先用 YSI 溶氧仪测定对照组和实验组的溶解氧(DO),然后取 1 mL 暴露液用鲁哥氏液固定,在显微镜下用血球计数板计数,计算青岛大扁藻的浓度。根据公式(1)~(3)计算

滤水率、摄食率和呼吸率:

$$F = V(\ln C_t - \ln C_{tf}) / (N \cdot t); \quad (1)$$

$$G = V(\ln C_t - \ln C_{tf})(C_{tf} - C_0) / [N \cdot t(\ln C_{tf} - \ln C_0)]. \quad (2)$$

式中: F 代表滤水率($\text{mL} \cdot \text{h}^{-1}$), 即每只桡足类每小时过滤的海水量; G 代表摄食率($\text{cells} \cdot \text{h}^{-1}$), 即每只桡足类每小时过滤的饵料细胞数; V 代表食物溶液体积(mL); N 代表桡足类的只数; C_0 代表起始食物浓度($\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$); C_t 代表对照瓶中的最终食物浓度($\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$); C_{tf} 代表实验瓶中剩余食物浓度($\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$); t 代表摄食时间(h)。

$$R_0 = (C_0 - C_i) \cdot V \cdot 0.7 / (n \cdot t). \quad (3)$$

式中: R_0 代表呼吸率($\mu\text{L} \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$); C_0 代表空白对照组 DO 浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); C_i 代表实验组 DO 浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); V 代表实验溶液体积(mL); n 为每瓶桡足类个数; t 代表实验时间(h); 0.7 代表氧气质量转化体积的系数。

表 1 Phe 对日本虎斑猛水蚤急性毒性实验结果

Table 1 Experimental results of acute toxicity of Phe to *Tigriopus japonicus*

暴露时间 Exposure time/h	半数致死浓度 LC ₅₀ / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	95% 置信区间 95% confidence interval	线性方程 Linear equation	相关系数 R^2 Correlation coefficient R^2
48	3.061	2.788~3.379	$y = 10.601x - 5.150$	1.000
72	3.983	3.538~4.488	$y = 7.876x - 4.728$	0.983
96	3.675	3.180~4.240	$y = 8.201x - 4.534$	0.960

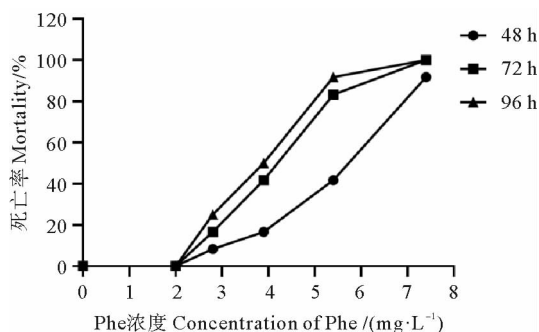


图 2 不同浓度 Phe 对日本虎斑猛水蚤的致死率结果

Fig.2 The effects of different concentrations of phenanthrene on the mortality of *Tigriopus japonicus*

2.2 Phe 对摄食率、滤水率和呼吸率的影响

与空白对照组相比, 50 和 500 $\mu\text{g/L}$ Phe 暴露显著降低了日本虎斑猛水蚤的滤水率与摄食率($P < 0.05$), 其中摄食率只有对照组的 45.1% 与 27.8% (见图 3)。日本虎斑猛水蚤的呼吸率则在 Phe 的暴露下出现了剂量依赖性下降, 与对照组相比分别下降了 68.5%、84.4%、93.8% ($P < 0.01$)。

1.3 数据分析

数据采用平均值±标准差表示, 用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析, 方差同质性用 Levene's 方法检验, 采用单因素方差分析 (One-Way · ANOVA) 评价对照组和各暴露组间的差异, 并进行 Tukey's 显著性检验, 置信水平 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果

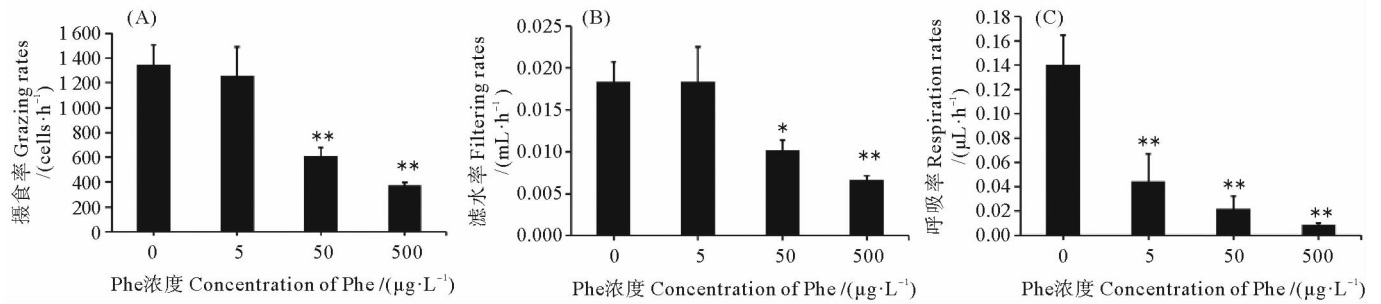
2.1 Phe 对日本虎斑猛水蚤的半数致死浓度

溶剂对照组日本虎斑猛水蚤的抑制率均为 0。采用概率单位法计算出 Phe 对日本虎斑猛水蚤的 48、72、96 h LC₅₀ 分别为 3.061、3.983 和 3.675 mg/L (见表 1)。通过观察, 日本虎斑猛水蚤死亡率随着暴露时间的延长和暴露浓度的升高逐渐升高, 表现出明显的剂量效应关系 (见图 2)。

2.3 Phe 对生长和繁殖的影响

2.3.1 比生长速率 与空白对照组相比, 5、50 和 500 $\mu\text{g/L}$ Phe 暴露 72 和 96 h 均显著降低了日本虎斑猛水蚤的比生长速率 ($P < 0.05$), 其中 500 $\mu\text{g/L}$ Phe 暴露组 72 和 96 h 的比生长速率分别比对照组下降了 67.2% 和 63.9% ($P < 0.01$, 见图 4)。50 和 500 $\mu\text{g/L}$ Phe 暴露 24 h 后日本虎斑猛水蚤的比生长速率也出现了显著下降 ($P < 0.05$), 而 48 h 时各组的比生长速率无显著性差异 ($P > 0.05$)。

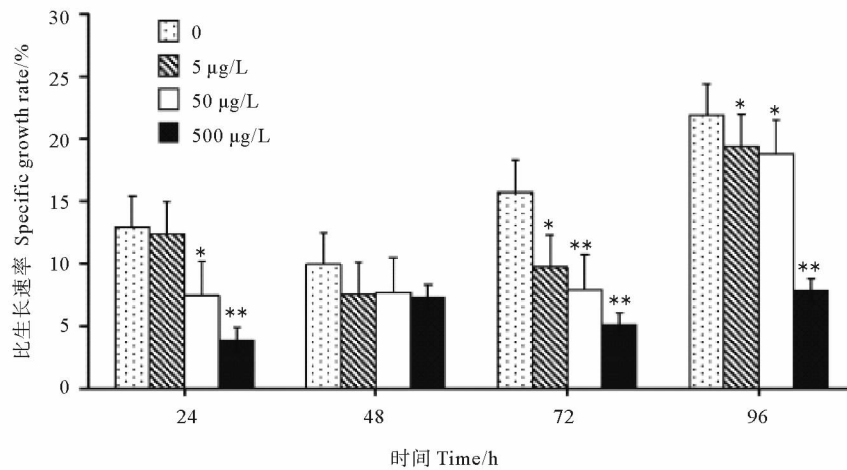
2.3.2 发育时间 与对照组相比, 5、50 和 500 $\mu\text{g/L}$ Phe 暴露显著延长了 F0 代日本虎斑猛水蚤从无节幼体发育到桡足幼体、从无节幼体为发育到成体, 以及从桡足幼体发育到成体的时间, 并且 Phe 对 F0 代发育时间的延长表现出明显的剂量依赖效应 ($P < 0.01$, 见图 5)。500 $\mu\text{g/L}$ Phe 暴露下 F0 代交配后无挂卵雌蚤出现, 未产出 F1 代。收集 5 和 50 $\mu\text{g/L}$ Phe 暴露后 F0 代雌蚤产出的 F1 代在清水中培养, 发现它们的发育时间与对照组相比显著延长 ($P < 0.01$)。



(*表示与对照组相比具有统计学上的显著性($P < 0.05$), **表示与对照组相比具有统计学上的极显著性($P < 0.01$)。The asterisks indicate statistically significant differences from the control group (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)).

图3 不同浓度的 Phe(0、5、50、500 µg/L)暴露 24 h 对日本虎斑猛水蚤摄食率(A)、滤水率(B)和呼吸率(C)的影响

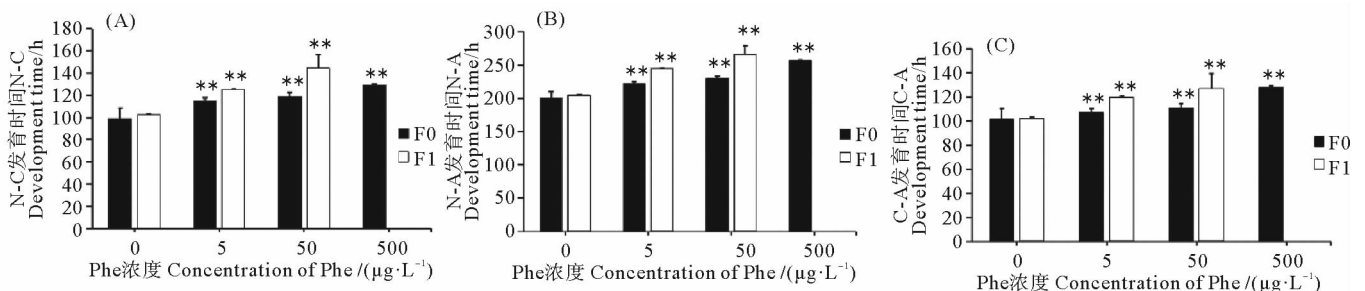
Fig.3 Grazing rates (A), filtering rates (B), and respiration rates (C) of *Tigriopus japonicus* after exposure to 0, 5, 50, 500 µg/L phenanthrene for 24 h



(*表示与对照组相比具有统计学上的显著性($P < 0.05$), **表示与对照组相比具有统计学上的极显著性($P < 0.01$)。The asterisks indicate statistically significant differences from the control group (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)).

图4 不同浓度的 Phe(0、5、50、500 µg/L)暴露 24、48、72 和 96 h 对日本虎斑猛水蚤比生长速率的影响

Fig.4 Specific growth rates of *Tigriopus japonicus* after exposure to 0, 5, 50, and 500 µg/L phenanthrene for 24, 48, 72, 96 h



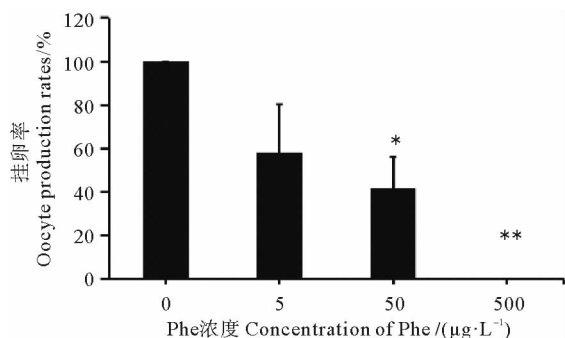
(*表示与对照组相比具有统计学上的显著性($P < 0.05$), **表示与对照组相比具有统计学上的极显著性($P < 0.01$)。The asterisks indicate statistically significant differences from the control group (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)).

图5 同浓度的 Phe(0、5、50、500 µg/L)暴露对 F0 代和 F1 代日本虎斑猛水蚤从无节幼体期发育到桡足幼体期的时长(A), 无节幼体期为发育到成体的时长(B), 以及从桡足幼体期发育到成体期的时长的影响(C)

Fig.5 Effect of 0, 5, 50, 500 µg/L phenanthrene on the on the development time of *Tigriopus japonicus*. N-C, nauplius to copepodid (A); N-A, nauplius to adult (B); C-A, copepodid to adult (C)

2.3.3 挂卵率 与对照组相比, 5、50 和 500 µg/L Phe 暴露 18 d 显著降低了日本虎斑猛水蚤的挂卵率, 其中

500 µg/L Phe 暴露组未出现挂卵现象($P < 0.01$), 导致生殖失败(见图 6)。

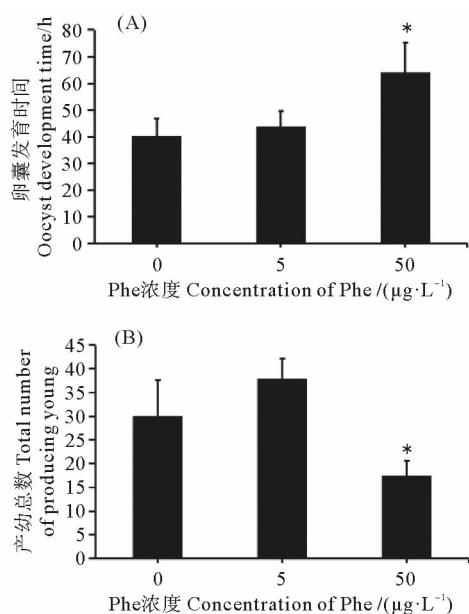


(*表示与对照组相比具有统计学上的显著性($P < 0.05$), **表示与对照组相比具有统计学上的极显著性($P < 0.01$)。The asterisks indicate statistically significant differences from the control group (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.)

图6 不同浓度的Phe(0、5、50、500 µg/L)暴露18 d对日本虎斑猛水蚤挂卵率的影响

Fig.6 Oocyte production rates of *Tigriopus japonicus* exposed to 0, 5, 50, 500 µg/L phenanthrene for 18 days

2.3.4 总产幼数和卵囊发育时间 与对照组相比, 50 µg/L Phe暴露导致日本虎斑猛水蚤10 a内的总产幼数出现显著下降($P < 0.01$), 仅为对照组的58.3% (见图7A)。此外, 50 µg/L Phe暴露下卵囊发育时间也出现了显著延长($P < 0.01$, 见图7B)。



(*表示与对照组相比具有统计学上的显著性($P < 0.05$)。The asterisks indicate statistically significant differences from the control group (* $P < 0.05$.)

图7 不同浓度的Phe(0、5、50 µg/L)暴露下日本虎斑猛水蚤10 d的总持续产幼数(A)和卵囊发育时间(B)的影响

Fig.7 Reproduction and oocyst development time of *Tigriopus japonicus* exposed to 0, 5, 50 µg/L Phe for 10 days

3 讨论

3.1 Phe对日本虎斑猛水蚤幼体的急性毒性效应

本研究测得Phe对日本虎斑猛水蚤幼体的96 h LC_{50} 为3.675 mg/L。急性毒性试验即单次给药毒性试验,指机体(人或试验动物)一次(或24 h内多次)接触外来化合物之后所引起的中毒效应,甚至死亡^[26-28]。桡足类种类繁多且存在多个发育阶段,导致同一种污染物对不同桡足类的急性毒性数据存在较大差异。例如,Phe对汤氏纺锤水蚤(*Acartia tonsa*)的48 h LC_{50} 为316.7 µg/L,而Phe对萼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*)的24 h EC_{50} 为195.7 mg/L^[29-30]。有研究报道Phe对伪镖水蚤(*Pseudodiaptomus pelagicus*)的96 h LC_{50} 为161 µg/L^[31],远低于本研究测得Phe对日本虎斑猛水蚤的96 h LC_{50} 值。急性毒性测试结果为污染物环境基准的制订与生态风险评估工作的开展提供基础数据。为保证制订的环境标准能够有效保护整个生态系统,建议采用生物的敏感期开展暴露实验。

3.2 Phe对日本虎斑猛水蚤摄食、呼吸以及生长发育的影响

慢性毒性暴露实验结果表明,5、50和500 µg/L Phe暴露均导致日本虎斑猛水蚤的呼吸率显著下降,同时高浓度的Phe暴露显著降低了其摄食率和滤水率。随着Phe暴露浓度的增加,日本虎斑猛水蚤的比生长速率逐渐降低,其中中、高浓度Phe暴露显著降低了日本虎斑猛水蚤F0和F1代的发育周期。低浓度Phe暴露虽然没有影响F0代的发育周期,但是导致F1代的发育周期延长。Yoon等^[32]报道20 mg/L阿特拉津长期暴露日本虎斑猛水蚤,会导致生长发育迟缓,蜕皮和变态时间延长。Fei等^[33]研究表明,食物短缺会延长日本虎斑猛水蚤的幼虫发育。本研究的生长速率的降低和发育周期的延长也是摄食率的降低导致。例如,暴露于3.5 µg/L甲维盐24 h后日本虎斑猛水蚤出现部分个体趴底、运动能力明显下降的现象,而5 µg/L甲维盐会导致所有个体均趴底,无自主活动能力,严重影响到其摄食和滤水的效率^[34]。因此,Phe可能是通过减少桡足类的摄食,降低其营养积累,导致最终生长发育缓慢。

3.3 Phe对日本虎斑猛水蚤繁殖能力的影响

Phe暴露下日本虎斑猛水蚤虽有持续交配行为,但随着Phe浓度的升高其挂卵率不断下降,500 µg/L暴露组甚至无挂卵,导致无F1代产生。在高浓度Phe暴露下,日本虎斑猛水蚤的10 d总持续产幼数显著下降,且卵囊发育时间显著增加。出现这一现象的原因可能是其在面临环境的胁迫时将自身所获得的能量更多的分配在抵御环境胁迫上,而减少分配在发育及繁殖上

的能量。王超等^[35]研究指出 55.29 $\mu\text{g/L}$ 的四溴双酚 A(TBBPA) 可以导致日本虎斑猛水蚤雌体生殖力显著升高。徐凤凤^[36] 的研究发现高浓度的四溴联苯醚(BDE-47) 会导致日本虎斑猛水蚤产幼数量明显减少。桡足类的卵富含脂类, 会积聚高浓度的亲脂污染物^[18,37]。Almeda 等^[37] 报道 *Acartia tonsa* 经过石油暴露后, 其卵中会存在 Phe、荧蒹(Fluoranthene) 等 PAHs, 表明 PAHs 可以通过卵向下一代转移。金香琴等^[16] 报道 PAHs 会对雌性大型水蚤的最终体长、初次挂卵时间、初次产幼时间以及产水蚤总量产生显著的影响, 其中雌性大型水蚤的最终体长和产水蚤总量对 PAHs 最为敏感。因此, PAHs 暴露会引起桡足类为抵御不良状态而降低产卵量, 同时降低生长发育速率, 导致种群数量减少。

综上所述, Phe 暴露导致日本虎斑猛水蚤的摄食率、滤水率和呼吸率受到抑制, 发育周期延长, 繁殖能力下降, 且存在一定时间和剂量效应。海洋桡足类作为食物链中重要的一环, 是多种海洋生物幼体的优质开口饵料^[38], 其繁殖能力的降低可能会缩小种群规模, 群落结构发生改变, 进而影响海洋生态系统功能。

4 结语

Phe 对日本虎斑猛水蚤幼体的 96 h LC_{50} 为 3.675 mg/L。Phe 的短期暴露降低了日本虎斑猛水蚤的摄食率、滤水率与呼吸率, 导致能量摄入减少, 进而造成比生长速率降低和发育周期延长; Phe 长期暴露会导致日本虎斑猛水蚤挂卵率降低, 总持续产幼数减少, 卵囊发育时间延长, 甚至在最高浓度组无挂卵, 繁殖能力受到严重损伤。

参考文献:

- [1] Honda M, Suzuki N. Toxicities of polycyclic aromatic hydrocarbons for aquatic animals[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2020, 17(4): 1363.
- [2] Lamichhane S, Bal K K, Sarukkalige R. Surfactant-enhanced remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: A review[J]. Journal of Environmental Management, 2017, 199: 46-61.
- [3] Wang Y, Liao R, Liu W, et al. Chlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediment from Maowei Sea, Guangxi, China: Occurrence, distribution, and source apportionment[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2017, 24(19): 16241-16252.
- [4] Sakizadeh M. Spatial distribution and source identification together with environmental health risk assessment of PAHs along the coastal zones of the USA[J]. Environmental Geochemistry and Health, 2020, 42(10): 3333-3350.
- [5] Miki S, Uno S, Ito K, et al. Distributions of polycyclic aromatic hydrocarbons and alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in Osaka Bay, Japan[J]. Marine Pollution Bulletin, 2014, 85(2): 558-565.
- [6] Yu H, Liu Y, Han C, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface waters from the seven main river basins of China: Spatial distribution, source apportionment, and potential risk assessment[J]. Science of the Total Environment, 2021, 752: 141764.
- [7] Maskaoui K, Zhou J, Hong H, et al. Contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Jiulong River estuary and western Xiamen Sea, China[J]. Environmental Pollution, 2002, 118(1): 109-122.
- [8] Zheng Y, Li Y, Yue Z, et al. Teratogenic effects of environmentally relevant concentrations of phenanthrene on the early development of marine medaka (*Oryzias latipes*) [J]. Chemosphere, 2020, 254: 126900.
- [9] Li Q, Wang N, Wu X, et al. Source and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons of different glaciers over the Tibetan Plateau[J]. Science China-Earth Sciences, 2011, 54(8): 1189-1198.
- [10] 王辉, 孙丽娜, 刘哲, 等. 大辽河地表水中多环芳烃的污染水平及致癌风险评价[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(4): 187-194. Wang H, Sun L N, Liu Z, et al. Pollution level and probabilistic cancer risk assessment of PAHs in surface water of Daliao River [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(4): 187-194.
- [11] 丘耀文, 周俊良, Maskaoui K, 等. 大亚湾海域水体和沉积物中多环芳烃分布及其生态危害评价[J]. 热带海洋学报, 2004, 23(4): 72-80. Qiu Y W, Zhou J L, Maskaoui K, et al. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediments from Daya Bay and their ecological hazard assessment[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2004, 23(4): 74-80.
- [12] 田蕴, 郑天凌, 王新红, 等. 厦门马銮湾养殖海区多环芳烃的污染特征[J]. 海洋环境科学, 2003, 22(1): 29-33. Tian Y, Zhen T L, Wang X H, et al. Contamination characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons in Maluan Bay mariculture area of Xiamen[J]. Marine Environmental Science, 2003, 22(1): 29-33.
- [13] 杨清书, 麦碧娟, 罗孝俊, 等. 珠江澳门水域水柱多环芳烃初步研究[J]. 环境科学研究, 2004, 17(3): 28-33. Yang Q S, Mai B X, Luo X J, et al. Preliminary study of polycyclic aromatic hydrocarbons of water column in Macau coastal waters[J]. Research of Environmental Sciences, 2004, 17(3): 28-33.
- [14] 吕晏锋, 赵晓祥, 王俊锋. 菲胁迫对鲤鱼的急性毒性和抗氧化酶响应[J]. 东华大学学报(自然科学版), 2018, 44(2): 309-316. Lü Y F, Zhao X X, Wang J F. Acute toxicity and response of antioxidant enzymes of phenanthrene stress on carp[J]. Journal of Donghua University(Natural Science), 2018, 44(2): 309-316.
- [15] Wang X, Zhu X, Chen X, et al. Phenanthrene and pyrene disturbed the growth of *Microcystis aeruginosa* as co-cultured with *Chlorella pyrenoidosa* [J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2020, 27(36): 45957-45964.
- [16] 金香琴. 多环芳烃胁迫对淡水生物种群生长及种间关系的影响及其生态风险评价[D]. 长春: 东北师范大学, 2014. Jin X Q. Effect and Ecological Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Stress on Populations Growth and Interspecific Relationships of Freshwater Aquatic Organisms[D]. Changchun: Northeast Normal University, 2014.

- [17] 杨菲菲. 海洋桡足类 cDNA 文库构建的新技术及 PAHs 胁迫下火腿伪镖水蚤基因表达的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
Yang F F. The New Method for Constructing cDNA Libraries of Marine Copepods and Gene Expression of *Pseudodiaptomus poplesia* in Response to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015.
- [18] Hsieh H Y, Huang K C, Cheng J O, et al. Environmental effects on the bioaccumulation of PAHs in marine zooplankton in Gaoping coastal waters, Taiwan: Concentration, distribution, profile, and sources[J]. Marine Pollution Bulletin, 2019, 144: 68-78.
- [19] Yoshinori I, Masaki S, Takamaru N, et al. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on an aquatic ecosystem: Acute toxicity and community-level toxic impact tests of benzo[a]pyrene using lake zooplankton community[J]. The Journal of Toxicological Sciences, 2013, 38(1): 131-136.
- [20] Hussain M, Laabir M, Daly Yahia M. A novel index based on planktonic copepod reproductive traits as a tool for marine ecotoxicology studies[J]. Science of the Total Environment, 2020, 727: 138621.
- [21] 刘全斌, 张明兴, 丁光辉, 等. 微塑料在日本虎斑猛水蚤(*Tigriopus japonicus*)体内的摄入、排出及其摄食行为的影响[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(4): 184-191.
Liu Q B, Zhang M X, Ding G H, et al. Uptake and elimination of microplastics by *Tigriopus japonicus* and its impact on feeding behavior[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(4): 184-191.
- [22] Kwok K, Grist E, Leung K. Acclimation effect and fitness cost of copper resistance in the marine copepod *Tigriopus japonicus* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2009, 72(2): 358-364.
- [23] 谢福武, 庞巧珠. 海南文昌人工鱼礁区浮游桡足类的群落结构特征研究[J]. 海洋通报(英文版), 2020, 22(2): 61-77.
Xie F W, Pang Q Z. Community structure of planktonic copepods in artificial reefs of Wenchang, Hainan[J]. Marine Science Bulletin, 2020, 22(2): 61-77.
- [24] Lee K, Raisuddin S, Hwang D S, et al. Two-generation toxicity study on the copepod model species *Tigriopus japonicus* [J]. Chemosphere, 2008, 72(9): 1359-1365.
- [25] 李翠萍, 吴民耀, 王宏元. 3 种半数致死浓度计算方法之比较[J]. 动物医学进展, 2012, 33(9): 89-92.
Li C P, Wu M Y, Wang H Y. LC_{50} calculated by Kochi, probit analysis and linear regression method[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2012, 33(9): 89-92.
- [26] 金叶飞, 施维林, 张信娣, 等. LAS、Cd²⁺ 污染对鲫鱼鳃、肝脏 SOD、Na⁺-K⁺-ATPase 活性的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2009, 44(3): 16-21, 30.
Jin Y F, Shi W L, Zhang X D, et al. Effects of combined LAS, Cd²⁺ pollution on the activities of SOD and Na⁺-K⁺-ATPase in the gill and liver of *Carassius auratus* [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2009, 44(3): 16-21, 30.
- [27] 陈爱梅, 王金花, 夏晓明, 等. 不同剂型吡虫啉对蚯蚓和斑马鱼的急性毒性评价[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(9): 1758-1763.
Chen A M, Wang J H, Xia X M, et al. Acute toxicity of imidacloprid with different formulation on earthworm and zebrafish[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2013, 32(9): 1758-1763.
- [28] 宋世明, 陈兆杰, 吴秋榕, 等. 不同剂型硝磺草酮及其原药对斑马鱼的急性毒性评价[J]. 南方农业学报, 2017, 48(8): 1518-1523.
Song S M, Chen Z J, Wu Q R, et al. Acute toxicity of mesotrione in different formulation and technical materials to zebrafish[J]. Journal of Southern Agriculture, 2017, 48(8): 1518-1523.
- [29] Lisbet S, Emilie R, Dag A, et al. Sorption of PAHs to microplastic and their bioavailability and toxicity to marine copepods under co-exposure conditions[J]. Environmental Pollution, 2020, 258: 113844.
- [30] DellaGreca M, Fiorentino A, Isidori M, et al. Toxicity evaluation of natural and synthetic phenanthrenes in aquatic systems[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2001, 20(8): 1824-1830.
- [31] Kennedy A J, Biber T W, May L R, et al. Sensitivity of the marine calanoid copepod *Pseudodiaptomus pelagicus* to copper, phenanthrene, and ammonia[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2019, 38(6): 1221-1230.
- [32] Yoon D S, Jun C P, Heum G P, et al. Effects of atrazine on life parameters, oxidative stress, and ecdysteroid biosynthetic pathway in the marine copepod *Tigriopus japonicus* [J]. Aquatic Toxicology, 2019, 213: 105213.
- [33] Fei L, Shi J H, Cheung S G, et al. The combined effects of elevated p CO₂ and food availability on *Tigriopus japonicus* Mori larval development, reproduction, and superoxide dismutase activity[J]. Marine Pollution Bulletin, 2018, 126: 623-628.
- [34] 王晶, 庄昀筠, 陈洪举, 等. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐对海洋桡足类日本虎斑猛水蚤的急慢性毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(5): 202-211.
Wang J, Zhuang Y Y, Chen H J, et al. Acute and chronic toxicity of emamectin benzoate on marine copepod *Tigriopus japonicus* Mori[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(5): 202-211.
- [35] 王超, 朱丽岩, 卜亚谦, 等. 四溴双酚 A 对日本虎斑猛水蚤生殖的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2019, 49(6): 37-43.
Wang C, Zhu L Y, Bu Y Q, et al. Effects of TBBPA on reproduction of *Tigriopus japonicus* [J]. Periodical of Ocean University of China, 2019, 49(6): 37-43.
- [36] 徐凤凤. 四溴联苯醚(BDE-47)对两种海洋桡足类的毒性影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
Xu F F. Toxic Effects of BDE-47 on Two Marine Copepods[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.
- [37] Almeda R, Wambaugh Z, Wang Z C, et al. Interactions between zooplankton and crude oil: Toxic effects and bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Plos One, 2013, 8(6): e67212.
- [38] 程浩楠, 王淑红, 程方平. 海洋桡足类作为生物活饵料的研究进展[J]. 海洋渔业, 2020, 42(4): 490-501.
Cheng H N, Wang S H, Cheng F P. Research progress on marine copepods as live prey[J]. Marine Fisheries, 2020, 42(4): 490-501.

Effects of Phenanthrene on Feeding, Growth and Reproduction of *Tigriopus japonicus*

Li Lianxu, Wang Jun, Li Xuan, Wang Dong, Ru Shaoguo

(College of Marine Life, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: In order to explore the toxic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on marine copepods, this study chose *Tigriopus japonicus* as the test organism and phenanthrene (Phe) as the representative PAHs to conduct exposure experiments. The acute toxicity test measured the 96 h median lethal concentration of Phe against *T. japonicus* was 3.675 mg/L. The chronic experiments showed that 5, 50, and 500 $\mu\text{g/L}$ Phe significantly reduced the specific growth rate, prolonged the time from anarchy larvae to adults, and decreased the egg-laying rate of *T. japonicus*. Moreover, 50 $\mu\text{g/L}$ Phe reduced the total number of juveniles and prolonged the egg sac development time, and no egg produced in 500 $\mu\text{g/L}$ Phe exposure group, which resulted in reproductive failure. The F1 offspring produced by females exposed to 5 and 50 $\mu\text{g/L}$ Phe were cultured in clear water, and their development time was also significantly delayed. In addition, 50 and 500 $\mu\text{g/L}$ Phe significantly reduced the feeding rate and filtration rate of *T. japonicus*, and the respiration rate was decreased in all exposure groups. Therefore, Phe had obvious toxic effects on feeding, growth, reproduction and offspring development of *T. japonicus*. This study could provide references for the evaluation of the ecological risk of PAHs on marine zooplankton.

Key words: *Tigriopus japonicus*; phenanthrene; ingestion; growth and development; reproduction

责任编辑 高 蓓