

DOI: 10.3724/j.1007-6336.2025-0098

中肋骨条藻应对聚苯乙烯纳米塑料胁迫的 分子网络与代谢适应

陈章悦¹, 李小环¹, 张鑫¹, 甄毓^{1,2,3,4}

(1.中国海洋大学 三亚海洋研究院, 海南 三亚 572024; 2.青岛海洋科技中心 海洋生态环境科学功能实验室, 山东 青岛 266237; 3.中国海洋大学 环境科学与工程学院, 海洋环境与生态教育部重点实验室, 山东 青岛 266100; 4.中国海洋大学 深海圈层与地球系统前沿科学中心, 山东 青岛 266100)

摘要: 海洋纳米塑料 (nanoplastics, NPs) 污染日益严重, 其对初级生产者微藻的毒性机制亟待阐明。本研究以典型海洋硅藻中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 为对象, 探究其在聚苯乙烯纳米塑料 (polystyrene nanoplastics, PS-NPs) 暴露 (0.1 mg/L 低浓度、10 mg/L 高浓度) 下的毒性效应及分子机制。结果表明, PS-NPs 显著抑制藻细胞生长和叶绿素 *a* 合成, 且呈浓度依赖性。转录组分析揭示, PS-NPs 通过抑制脂肪酸 (*fabG*, *fabZ*) 和甘油磷脂 (*AGPAT*, *EPT*) 代谢基因来破坏细胞膜, 下调光合基因 (*psbK*) 表达水平, 同时诱导氧化应激。作为响应, 藻细胞上调抗氧化基因 (*SOD1*, *GST*, *APX*, *RRM1*) 并激活能量代谢通路 (柠檬酸循环、糖酵解、氧化磷酸化) 关键基因以弥补能量缺口。代谢组分析进一步显示, 氨基酸生物合成、2-氧代羧酸代谢和 ABC 转运蛋白通路被显著富集, 相关代谢物 (如 L-谷氨酰胺、2-酮戊二酸、 α , α -海藻糖等) 上调, 表明藻细胞通过储备抗氧化前体、加强能量供应和外排毒物来应对胁迫。本研究解析了 PS-NPs 对海洋硅藻的多层次毒性机制及藻细胞的适应性防御策略, 为海洋纳米塑料生态风险评估提供了重要科学依据。

关键词: 中肋骨条藻; 聚苯乙烯; 纳米塑料; 毒性机制; 转录组; 代谢组

中图分类号: X171.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-6336(2026)03-0363-11

Molecular networks and metabolic adaptations of *Skeletonema costatum* under polystyrene nanoplastic stress

Chen Zhangyue¹, Li Xiaohuan¹, Zhang Xin¹, Zhen Yu^{1,2,3,4}

(1.Sanya Institute of Oceanography, Ocean University of China, Sanya 572024, China; 2.Laboratory of Marine Ecological Environment Science, Qingdao Marine Science and Technology Center, Qingdao 266237, China; 3.Key Laboratory of Marine Environment and Ecology, Ministry of Education, College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 4.Frontier Science Center for Deep Sea Sphere and Earth System, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

Abstract: Marine nanoplastics (NPs) are posing escalating pollution threats, yet their toxic mechanisms towards primary producer microalgae remain inadequately clarified. This study investigates the concentration-dependent toxicity (low: 0.1 mg/L; high: 10 mg/L) of polystyrene nanoplastics (PS-NPs) in the typical marine diatom *Skeletonema costatum*. Results demonstrated that PS-NPs significantly suppressed algal growth and chlorophyll

收稿日期: 2025-06-11, 修订日期: 2025-08-04

基金项目: 海南省自然科学基金项目 (425MS104)

作者简介: 陈章悦 (2001—), 女, 江苏苏州人, 硕士研究生, 主要研究方向为环境保护与修复, E-mail: chenzhangyue2023@163.com

通信作者: 甄毓 (1978—), 男, 博士, 教授, 主要从事海洋环境科学研究, E-mail: zhenyu@ouc.edu.cn

a synthesis in a concentration-dependent manner. Transcriptomic analysis revealed that PS-NPs disrupted cell membrane integrity by inhibiting key genes involved in fatty acid metabolism (*fabG*, *fabZ*) and glycerophospholipid synthesis (*AGPAT*, *EPT*), downregulated the expression of photosynthesis-related genes (*psbK*), and concurrently triggered oxidative stress. As an adaptive response, cells upregulated antioxidant-related genes (*SOD1*, *GST*, *APX*, *RRM1*) and activated the key genes of energy metabolism pathways (citric acid cycle, glycolysis and oxidative phosphorylation) to compensate for the energy deficit. Metabolomic analysis further indicated that the pathways of amino acid biosynthesis, 2-oxocarboxylic acid metabolism and ABC transporters were significantly enriched. Relevant metabolites like L-Glutamine, 2-Oxoglutaric acid and α,α -Trehalose were markedly upregulated, indicating that algal cells alleviated stress by storing antioxidant precursors, improving energy supply and facilitating toxin excretion. This study elucidates the multi-level toxic mechanisms of PS-NPs on marine diatoms and the adaptive defense strategies of algal cells, thereby providing critical scientific insights for ecological risk assessment of marine NPs pollution.

Key words: *Skeletonema costatum*; polystyrene; nanoplastics; toxic mechanism; transcriptome; metabolome

当前,海洋中的塑料垃圾重量已达到海洋垃圾总重量的85%,预计将于2030年突破3亿吨^[1-2]。其中,粒径不大于5 mm的塑料颗粒被定义为微塑料(microplastics, MPs),粒径小于1 μm 的塑料颗粒被称为纳米塑料(nanoplastics, NPs)^[1]。据报道,荷兰瓦登海中NPs丰度为2.7~6.5 $\mu\text{g/L}$ ^[3],南极洲NPs丰度高达8.3~67 $\mu\text{g/L}$ ^[4]。此外,有研究学者认为,由于较大塑料颗粒的风化降解,NPs浓度可能比目前发现的MPs浓度还要高出 10^{14} 倍,其浓度在海洋环境中预计可达 $1.3\times 10^{10}\sim 3\times 10^{13}$ 个/L^[5]。NPs不仅因其纳米级尺寸效应和表面电荷特性而展现出高于MPs的生物可利用性和毒性^[6],更为严峻的是,NPs能够沿食物链传递,如“微藻—小型甲壳类动物—鱼类”,导致污染物在顶级捕食者体内呈指数级累积,造成健康威胁^[7-8]。因此,NPs对海洋生态系统的影响亟待深入研究。

作为环境塑料污染的主要成分之一,聚苯乙烯纳米塑料(polystyrene nanoplastics, PS-NPs)在亚洲沙滩与海洋表层水中的占比(40.4%和31.0%)远超全球其他海洋地区^[9]。此外,Yang等^[10]将PS-NPs与其他所有测试的纳米塑料对比后发现,PS-NPs由于其较高的比表面积等性质表现出更高的毒性,因此PS-NPs的毒性效应是研究者关注的重点。

微藻作为初级生产者,在水生生态系统的物质循环和能量流动方面具有重要作用^[11],维持着整个海洋生态系统的稳定和动态平衡^[12-13]。现有研究发现,NPs能够与微藻异质聚集,诱导其

细胞表面结构发生变化^[14]而形成物理损伤,破坏细胞形态和细胞器功能^[15],引发氧化应激^[16]。然而,这些表型变化背后的分子调控机制尚未得到深入研究,NPs胁迫下的微藻代谢紊乱发生机理尚不明确。

硅藻是海洋初级生产力的主要贡献者^[17],中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)作为硅藻属中数量最丰富的成员之一,广泛分布于全球近岸海域。一方面,中肋骨条藻固碳能力强,是海洋有机碳的生产者,对全球碳循环有着重要影响^[18];另一方面,它还具有生长周期短、易操作观察、对有毒物质敏感等特点,是当前分析纳米塑料毒性效应的理想材料^[19]。本研究拟通过整合生理生化指标、转录组和代谢组分析,系统解析0.1 μm PS-NPs暴露下该藻的生理变化、分子应答及代谢调控,揭示典型硅藻应对NPs胁迫的响应机制,为建立海洋纳米塑料生态风险评估体系提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 纳米塑料与藻种培养

PS-NPs(100 nm)购自海安智川电池材料科技有限公司,在超纯水介质中保持25 g/L单分散状态。实验前进行30 min超声处理,使悬浮液中PS-NPs分散均匀。使用激光粒度分析仪和扫描电子显微镜(scanning electron microscopic, SEM)对PS微球的粒径分布和形貌进行表征。

研究所用的中肋骨条藻(*S. costatum*)保存于中国海洋大学三亚海洋研究院。所用人工海水

盐度为 33, pH 范围为 7.8~8.0, 经 0.45 μm 醋酸纤维滤膜过滤后高温、高压灭菌处理。向海水中添加 f/2 培养基进行藻种培养, 培养温度为 20 $^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, 光暗比为 12 h : 12 h, 光照强度为 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 。

1.2 实验设计

依据 Besseling 等^[5]对 NPs 浓度 ($1.3\times 10^{10}\sim 3\times 10^{13}$ 个/L) 的估算, 本研究设置 PS-NPs 处理组浓度为 0.1 mg/L (低浓度) 和 10 mg/L (高浓度), 低浓度和高浓度分别对应 1.9×10^{11} 个/L 和 1.9×10^{13} 个/L, 同时以不添加 PS-NPs 的处理为对照组, 每组设置 3 个生物学重复。培养基中微藻初始浓度为 1×10^7 个/mL, 总培养体积设置为 1500 mL。培养期间每天定时摇瓶 3 次以避免藻体沉淀或吸附于锥形瓶壁, 并对容器摆放位置进行随机调整以减少光照不均对微藻生长的影响。

1.3 藻密度及叶绿素 *a* 含量测定

暴露期间, 每 2 d 定时收集 1 mL 藻液, 通过光学显微镜 (DM500, 徕卡) 计数, 绘制生长曲线。藻细胞生长抑制率计算公式如下:

$$I_{gi}(\%) = \frac{C_{ci} - C_{ti}}{C_{ci}} \times 100\% \quad (1)$$

式中: I_{gi} 是时间为 i 时的生长抑制率; C_{ci} 是时间为 i 时对照组的藻密度; C_{ti} 是时间为 i 时处理组的藻密度。

每 2 d 同一时间收集 10 mL 藻液, 使用紫外可见分光光度计 (UV5 Nano, 梅特勒-托利多) 测定上清液在 665 nm、652 nm 和 480 nm 波长处的吸光值, 根据公式 (2) 计算叶绿素 *a* 含量 (mg/L)。

$$\text{叶绿素 } a = 16.29 \times A_{665} - 8.54 \times A_{652} \times 0.5 \quad (2)$$

式中: A_{665} 、 A_{652} 分别为上清液在 665 nm、652 nm 波长处的吸光值。

1.4 转录组分析

取对数期中肋骨条藻培养液, 经 0.45 μm 醋酸纤维滤膜过滤, 用 1 mL PBS 缓冲液重悬藻细胞, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、5000 rpm 条件下离心 5 min, 弃上清液。将藻泥迅速置于液氮中冷冻 20 min, 随后转移至 -80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存备用。样品总 RNA 提取及 Illumina NovaSeq 6000 测序由上海派森诺生物

科技股份有限公司完成。对原始测序数据 (FASTQ 文件) 进行质控, 去除含接头、长度小于 50 bp 及序列平均质量低于 Q20 的 Reads。利用高质量 Reads 进行从头拼接获得转录本, 经聚类后选取最长转录本作为 Unigene, 以此进行 GO、KEGG、eggNOG、SwissProt、Pfam 注释。同时, 将过滤后的 Reads 比对到 Unigene, 得到每个 Unigene 的 Reads Count 数。采用 DESeq 进行基因差异表达分析, 筛选标准为: $|\log_2\text{FoldChange}| > 1$ 且 $p < 0.05$, 并对差异表达基因进行富集分析。

1.5 代谢组分析

取样时间与收集方法同转录组测序样品保持一致, 每个处理组设置 4 个生物学重复。样品代谢物抽提及 LC-MS 非靶向代谢组检测由上海派森诺生物科技股份有限公司完成。原始数据经 ProteoWizard 转换为 mzXML 格式后, 采用 XCMS 软件进行峰对齐、保留时间校正及峰面积提取。提取数据经代谢物结构鉴定和预处理后, 进行质量评价, 最后进行数据分析, 包括主成分分析 (PCA)、偏最小二乘判别分析 (PLS-DA)、正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA)、组间差异代谢物筛选、KEGG 通路富集分析等。

1.6 统计分析

为分析处理组与对照组之间的统计学差异, 使用 SPSS 27 进行数据的统计学处理及差异显著性分析, 在进行正态分布与方差齐性的检验后, 采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 中的最小显著性差异 (Least significant difference, LSD) 法进行组间差异性检验。采用 Origin2021 作图。

2 结果与讨论

2.1 PS-NPs 的表征

如图 1a 所示, PS 为粒径约 100 nm、尺寸均一的球形颗粒。粒径分布结果 (图 1b) 表明, PS 微球平均粒径为 (0.103 ± 0.001) μm , 与生产商提供的规格相符。SEM 结果和激光粒度分析结果一致, 说明所制备的 PS-NPs 均一性良好, 可作为本研究的目标污染物。

2.2 PS-NPs 对中肋骨条藻的生长和光合抑制

暴露于不同浓度 PS-NPs 后, 中肋骨条藻的

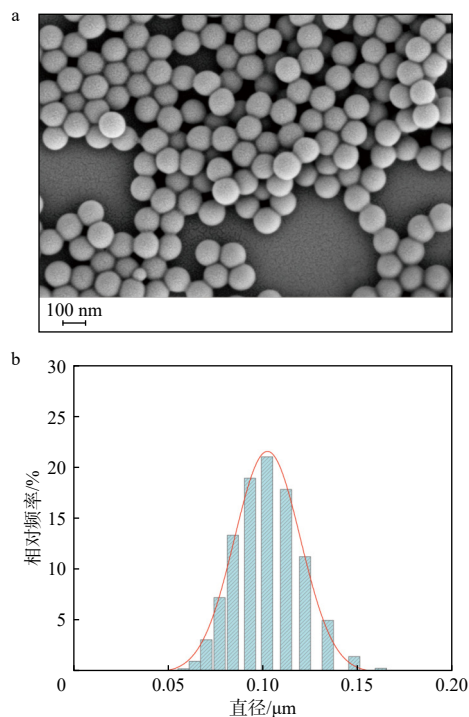
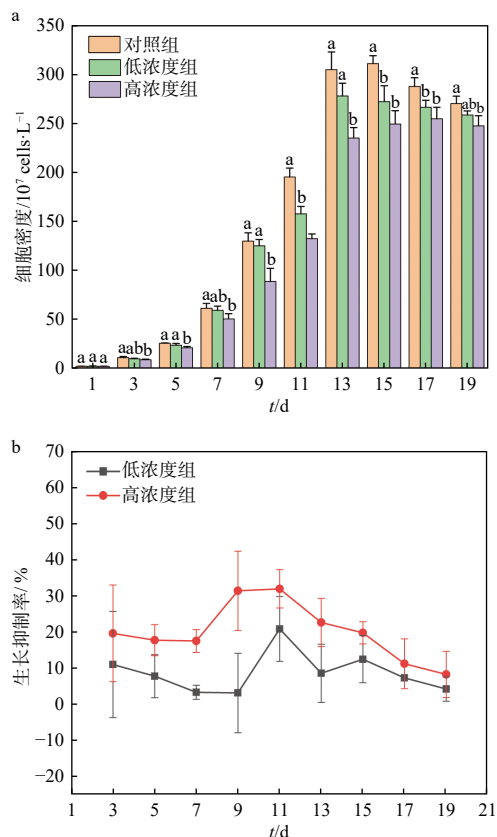


图1 聚苯乙烯纳米塑料的 SEM 图像(a)和粒径分布(b)

Fig. 1 SEM image (a) and particle size distribution graph of polystyrene nanoplastics (b)

生长均受到抑制。如图 1a 所示,低浓度组和高浓度组的藻密度在第 11 d 时显著低于对照组 ($p < 0.05$),最大生长抑制率分别达到 20.92% 和 32.01% (图 1b)。有研究表明,海洋硅藻细胞壁中的二氧化硅成分可促进 NPs 的吸附,促进异质聚集,阻碍细胞内外的物质交换与能量运输,降低细胞内有害物质代谢速率,最终抑制细胞生长^[20-21]。对比两种浓度处理组,高浓度组对中肋骨条藻的生长抑制率始终高于低浓度组 (图 2b)。同时,高浓度组在指数生长期的藻密度显著低于低浓度组 ($p < 0.05$) (图 2a),这表明 PS-NPs 的浓度越高,对中肋骨条藻的生长抑制作用越明显,这与先前关于 NPs 对微藻毒性具有浓度效应的报道一致^[22]。

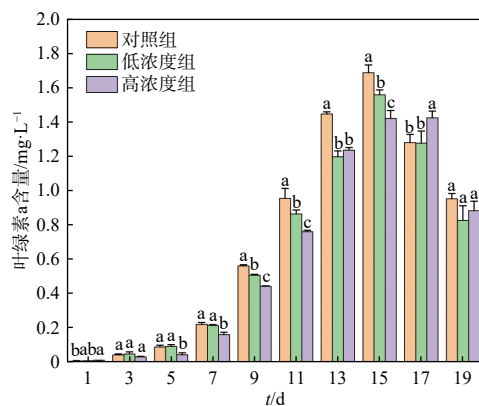
叶绿素 *a* 是微藻捕获光能并将其转化为化学能所必需的主要色素,直接参与光合电子传递,促进光能转换,与藻生长密切相关^[23]。如图 3 所示,除第 17 d 以外,含 PS-NPs 的处理组中叶绿素 *a* 含量均显著低于对照组 ($p < 0.05$),表明 PS-NPs 的加入会抑制中肋骨条藻中叶绿素 *a* 含量,且高浓度 PS-NPs 对中肋骨条藻叶绿素 *a* 含



(不同字母表示经方差分析和最小显著性差异检验确定的统计学显著差异, $p < 0.05$)

图2 不同浓度 PS-NPs 对中肋骨条藻生长的影响

Fig. 2 Effects of different concentrations of PS-NPs on the growth of *S. costatum*



(不同字母表示经方差分析和最小显著性差异检验确定的统计学显著差异, $p < 0.05$)

图3 不同浓度 PS-NPs 对中肋骨条藻叶绿素 *a* 含量的影响

Fig. 3 Effects of different concentrations of PS-NPs on the Chlorophyll *a* content of *S. costatum*

量的抑制作用强于低浓度。PS-NPs 对叶绿素 *a* 的抑制可能会降低微藻细胞对光能的捕获能力, 使光合作用受阻, 生长减缓^[24]。

2.3 转录组分析

2.3.1 PS-NPs 胁迫下中肋骨条藻差异表达基因分析

通过转录组分析进一步研究 PS-NPs 对中肋骨条藻的毒性机制。火山图(图 4a—图 4c)

表明, 低浓度和高浓度 PS-NPs 的暴露均对中肋骨条藻基因表达有影响, 差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)多数呈下调趋势。如图 4d 所示, 对照组 v.s. 高浓度组、对照组 v.s. 低浓度组和高浓度组 v.s. 低浓度组共有的 DEGs 数量为 4, 各组特有的 DEGs 数量分别为 557、101 和 220, 表明高浓度 PS-NPs 对中肋骨条藻的影响更显著。

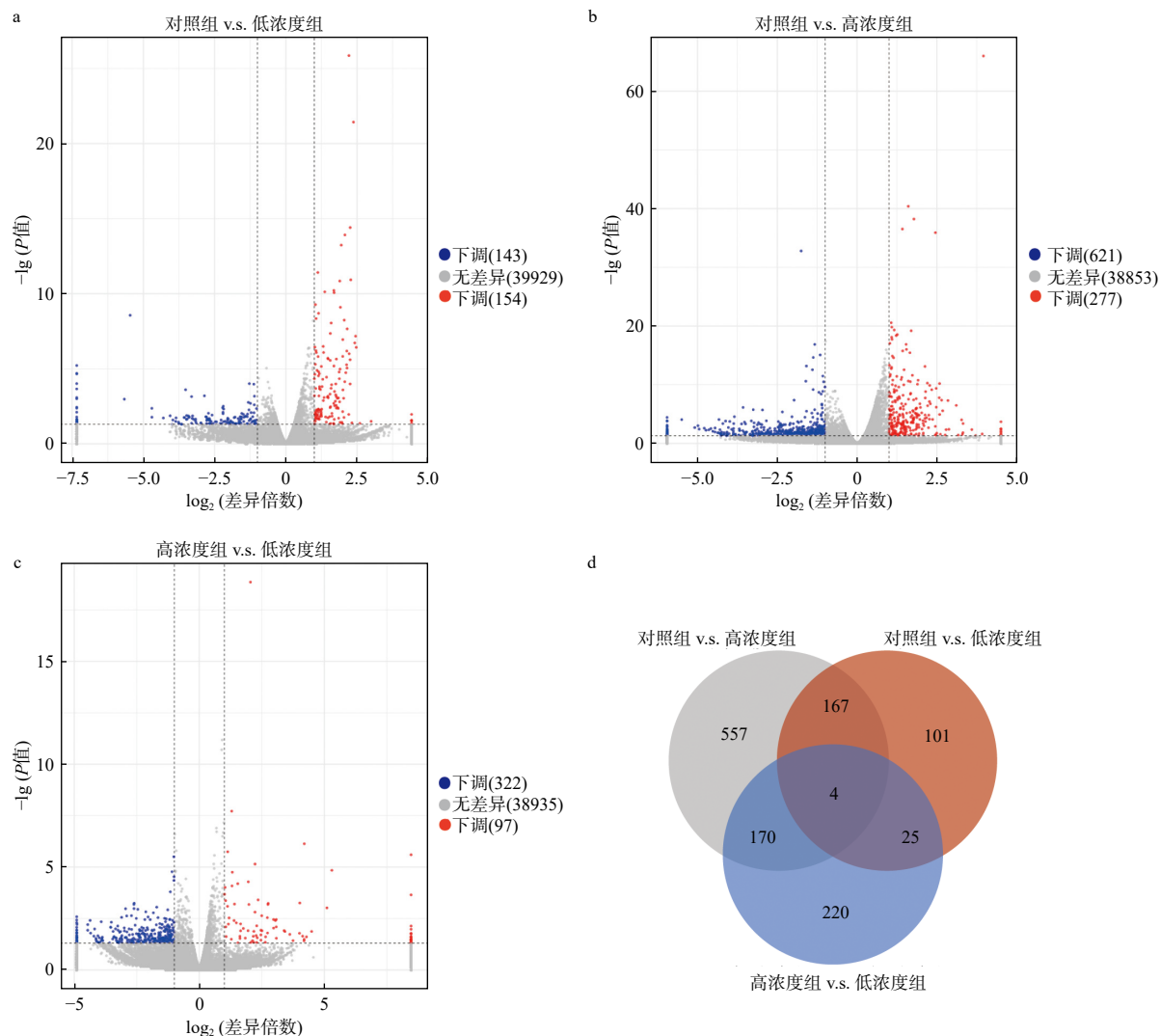


图4 火山图及差异表达基因韦恩图

Fig. 4 Volcano plot and Venn diagram of differentially expressed genes

2.3.2 PS-NPs 胁迫下主要代谢通路分析

KEGG 分析显示, 氨基酸代谢、碳水化合物代谢和脂类代谢通路富集基因较多。与对照组相比, 低浓度 PS-NPs 对氨基酸代谢影响更显著(图 5a)。高浓度组中的 DEGs 则多富集于碳水

化合物代谢(图 5b), 如“柠檬酸循环”和“糖酵解”等。结果表明, 高浓度 PS-NPs 胁迫下, 微藻调整能量代谢网络, 作出适应性改变以应对 PS-NPs 胁迫。此外, 遗传信息处理途径有关翻译转化的“核糖体”也被显著富集(图 5c)。

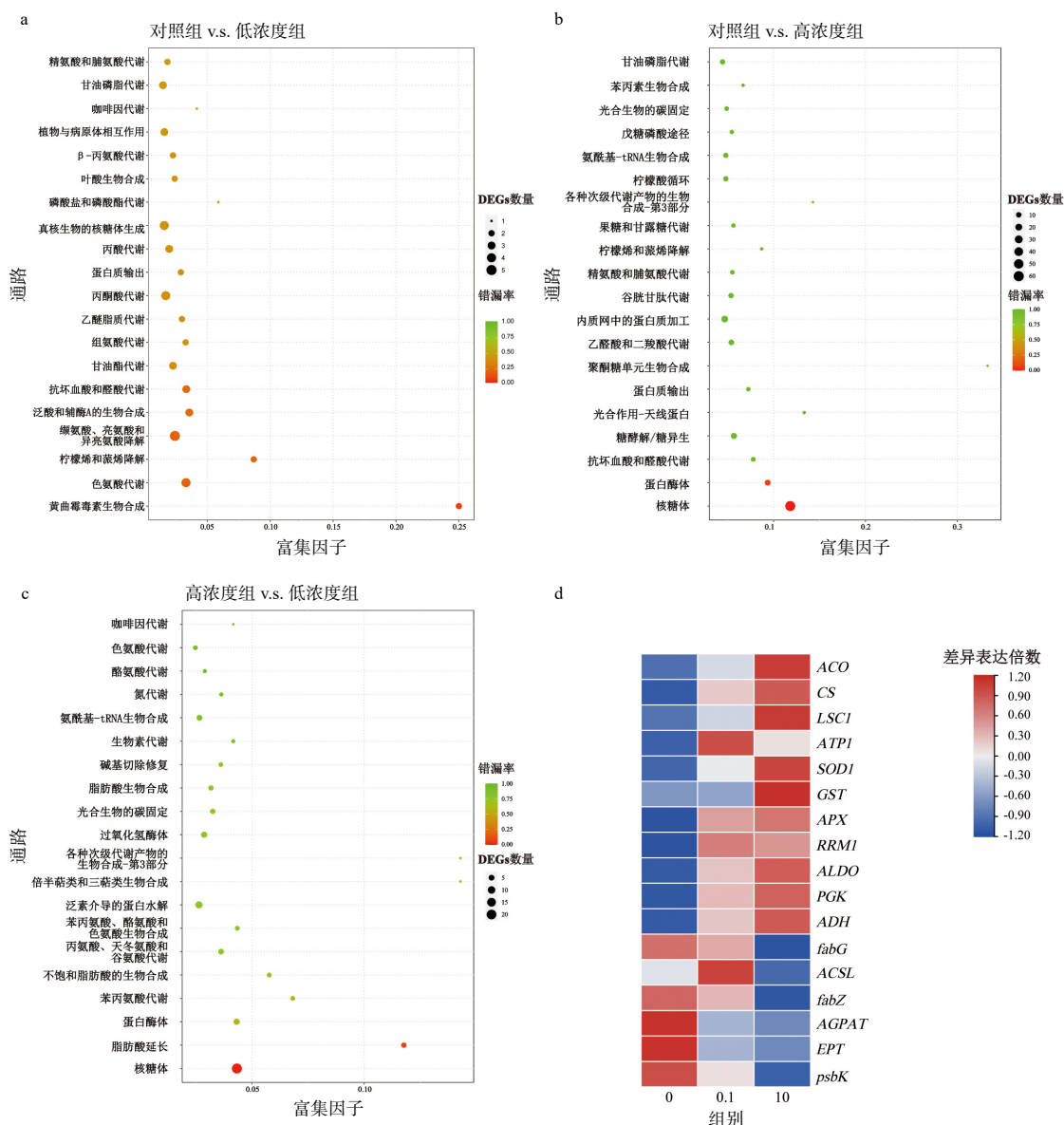


图 5 差异表达基因 KEGG 富集情况及不同组别中基因表达倍数热图

Fig. 5 KEGG enrichment of differentially expressed genes and heatmap of gene expression fold changes across experimental groups

基于各比较组 KEGG 分析结果, 对中肋骨条藻中受 PS-NPs 影响的脂肪酸生物合成、光合作用、柠檬酸循环、氧化磷酸化和糖酵解等主要代谢通路进行分析, 利用差异基因表达量绘制热图 (图 5d)。结果显示, 在脂肪酸生物合成代谢途径中, 3-氧酰基-[酰基载体蛋白]还原酶 (3-oxoacyl-[acyl-carrier protein] reductase, fabG) 和 3-羟脂基-[酰基载体蛋白]脱水酶 (3-hydroxyacyl-[acyl-carrier-protein] dehydratase, fabZ) 的基因表达量下调, 表明脂肪酸链延伸受阻。这进一

步导致甘油磷脂合成所需的酰基链供应不足, 间接引起甘油磷脂代谢途径中溶血磷脂酸酰基转移酶 (lysophosphatidic acid acyltransferase, AGPAT) 和乙醇胺磷酸转移酶 (ethanolamine phosphotransferase, EPT) 基因表达下调, 最终破坏细胞膜完整性, 这与 Wang 等^[15]观察到的细胞膜损伤现象一致。膜损伤引发级联效应: (1) 光合作用代谢途径中光系统 II PsbK 蛋白 (Photosystem II PsbK protein) 下调, 降低了光捕获能力和光利用率, 抑制光合作用; (2) 电子传

递链中断促使活性氧(reactive oxygen species, ROS)过度产生^[25],破坏光合结构并抑制藻类生长^[26],与Feng等^[27]在铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)中发现的膜损伤-光合作用抑制-氧化应激的毒性机制吻合。

为响应氧化应激,微藻激活抗氧化系统。两种浓度处理组中,编码超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的关键抗氧化基因 *SOD1* 上调,参与谷胱甘肽代谢的谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)、L-抗坏血酸过氧化物酶(L-ascorbate peroxidase, APX)和核糖核苷二磷酸还原酶亚基 M1(ribonucleoside-diphosphate reductase subunit M1, RRM1)基因均呈现高表达,表明中肋骨条藻在 PS-NPs 胁迫下通过强化抗氧化防御维持细胞内氧化还原平衡。

为了弥补能量缺口,PS-NPs 处理组中与能量代谢(柠檬酸循环、氧化磷酸化和糖酵解)相关的关键基因表达均上调。比如柠檬酸循环代谢途径中的乌头酸水合酶(aconitate hydratase, ACO)、柠檬酸合酶(citrate synthase, CS)和琥珀酰辅酶 A 合成酶 α 亚基(succinyl-CoA synthetase α subunit, LSC1);氧化磷酸化途径中的 F 型 H^+ ATP 转运酶 α 亚基(F-type H^+ -transporting ATPase subunit α , ATP1);糖酵解途径关键酶一果糖-二磷酸醛缩酶(fructose-bisphosphate aldolase, ALDO)、磷酸甘油酸激酶(phosphoglycerate kinase, PGK)与醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)编码基因。这表明中肋骨条藻可能通过柠檬酸循环、氧化磷酸化和糖酵解代谢途径的协同上调驱动 ATP 生成,增强能量代谢以应对 PS-NPs 胁迫。

值得注意的是,中肋骨条藻对 PS-NPs 的响应表现出浓度依赖性。尽管参与能量代谢途径的关键基因表达水平上调(图 5d),但是暴露于 PS-NPs 的中肋骨条藻生长仍受到显著抑制(图 2),这可能源于两方面原因:(1)基因上调产生的能量代偿不足以抵消 PS-NPs 对微藻光合作用的强烈抑制;(2)在光合作用受限的情况下,微藻将有限的能量优先分配给抗氧化等防御过程^[28],导致用于生长的能量减少。这种能量分配策略的

转变在高浓度 PS-NPs 下尤为显著:低浓度 PS-NPs 下细胞尚能通过适度能量代偿维持稳态,而高浓度 PS-NPs 则使光合作用及脂肪酸代谢损伤超出细胞稳态调节阈值,迫使细胞最大化基础能量代谢和抗氧化能力,从生长模式转向防御模式。这一发现与三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)在微塑料暴露下的耐受性差异^[29]共同表明,未来需深入探索引发代谢紊乱的 NPs 浓度阈值、尺寸效应及微藻耐受上限,从而精准评估 NPs 生态风险,为制定污染标准提供支撑。需要强调的是,本研究设置的浓度旨在揭示 PS-NPs 的潜在毒性机制,为可能出现的高污染情景提供生态风险预警,并不直接代表当前海域普遍暴露水平^[30]。未来需在与环境相关性更高的浓度水平下验证关键响应指标,以提升研究结果的生态真实性。

2.4 代谢组分析

2.4.1 PS-NPs 胁迫下中肋骨条藻差异代谢物分析

LC-MS/MS 分析共检测到 1042 种代谢物,其中脂质和脂质样分子类较多,其次是有机酸及其衍生物、有机杂环化合物和有机氧化合物。主成分分析显示(图 6a 和图 6b):质控样本离散程度低、聚集度高,表明检测稳定性和重复性较好。低浓度组与对照组样品距离较近、相似度较高,而高浓度组与其他两组在 PC1 方向显著分离,揭示了高浓度 PS-NPs 会引起中肋骨条藻的代谢物差异。采用 OPLS-DA 进一步分析组间差异(表 1),以对照组 v.s. 高浓度组为例,在正、负离子模式下,模型解释度($R^2X=0.484$ 和 0.487 , $R^2Y=0.999$ 和 0.998)与预测能力($Q^2=0.891$ 和 0.907)均接近 1,表明模型可靠且能有效区分组间差异。图 6c—图 6f 进一步证实,高浓度组与对照组和低浓度组界限清晰,分离趋势较好。

基于 OPLS-DA(VIP>1 且 $p<0.05$)筛选差异代谢物,并用 Venn 图展示各处理组差异代谢物的数量和交并集关系。由图 7 可知,3 个比较组共有 26 种共享差异代谢物,与对照组相比,低浓度和高浓度 PS-NPs 分别引起 102 种和 388 种代谢物发生变化,表明高浓度 PS-NPs 显著增加了中肋骨条藻差异代谢物数量。

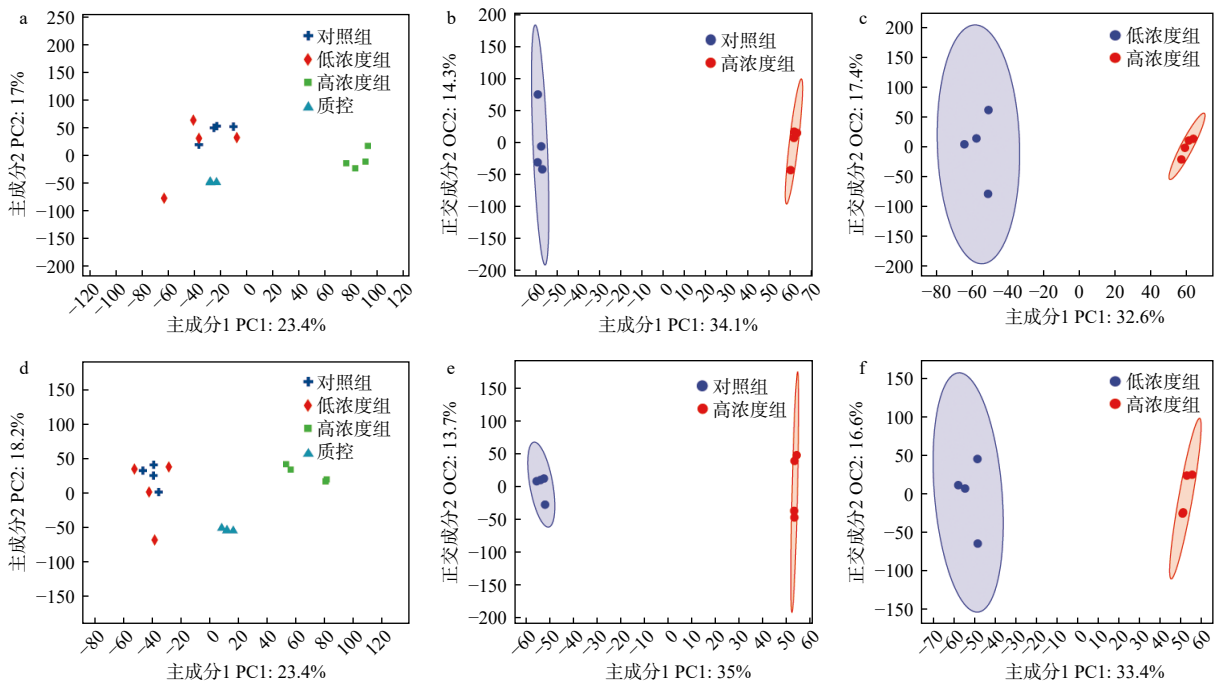


图 6 差异代谢物主成分分析和 OPLS-DA 得分比较

Fig. 6 Principal component analysis of differential metabolites and OPLS-DA score comparison plots

表 1 PS-NPs 胁迫下中肋骨条藻 OPLS-DA 模型参数

Tab.1 OPLS-DA model parameter table of *S. costatum*

组别	极性	R2X(cum)	R2Y(cum)	Q2(cum)
对照组 v.s. 高浓度组	正	0.484	0.999	0.891
	负	0.487	0.998	0.907
高浓度组 v.s. 低浓度组	正	0.5	0.995	0.886
	负	0.5	0.996	0.902

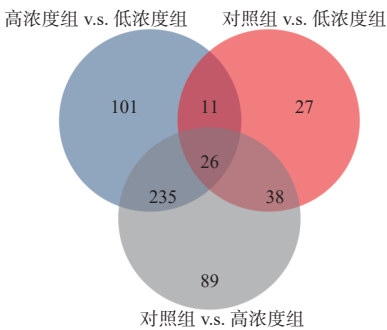


图 7 代谢产物韦恩图

Fig. 7 Venn diagram of metabolisms

2.4.2 PS-NPs 胁迫下主要代谢通路分析

根据对照组 v.s. 高浓度组和高浓度组 v.s. 低浓度组的差异代谢物 KEGG 富集结果, 选择显著性最高的前 20 条通路绘制气泡图, 结果如图 8a

和图 8b 所示。结果表明, 差异代谢物富集通路主要集中于有关氨基酸代谢的氨基酸生物合成和 2-氧代羧酸代谢, 同时, ABC 转运蛋白通路也得到明显富集。对这 3 条代谢通路中的差异代谢物进行分析, 结果列于表 2 和表 3。

结果表明, 经纳米塑料暴露后, 中肋骨条藻中与氨基酸代谢相关的代谢物均显著上调。这些变化有利于微藻储备抗氧化物质, 建立防御屏障以抵抗 PS-NPs 诱导的氧化应激。例如, L-谷氨酰胺作为合成谷胱甘肽的关键前体, 对维持氧化还原平衡至关重要。芳香族氨基酸(L-苯丙氨酸和 L-色氨酸)是类黄酮、木质素及褪黑素等抗氧化物质的前体^[31], 并参与植物激素(如吲哚-3-乙酸)和防御化合物(如硫代葡萄糖苷和吲哚生物碱)的合成^[32]。这些关键代谢物的上调可能是

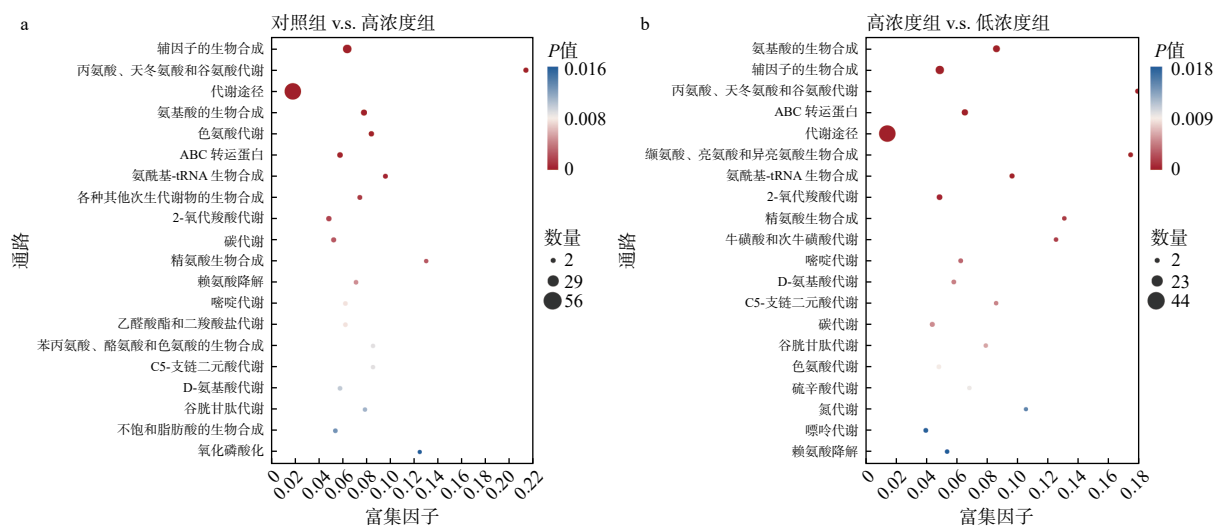


图 8 差异代谢产物 KEGG 通路分析

Fig. 8 KEGG pathway analysis of differential metabolites

表 2 对照组 v.s. 高浓度组中肋骨条藻主要代谢通路的相关代谢物质

Tab.2 Metabolites related to the major metabolic pathways in *S. costatum* in control v.s. high concentration group

名称	路径	差异倍数	p值
β-D-果糖-6-磷酸	氨基酸的生物合成	3.250	<0.001
L-谷氨酰胺	氨基酸的生物合成/ ABC转运蛋白	2.545	<0.001
2-酮戊二酸	氨基酸的生物合成/ 2-氧代羧酸代谢	2.406	<0.001
4-甲基-2-氧代戊酸酯	氨基酸的生物合成/ 2-氧代羧酸代谢	2.506	<0.001
2-氧代丁酸	氨基酸的生物合成/ 2-氧代羧酸代谢	2.300	<0.001
2-氧代二酸	氨基酸的生物合成/ 2-氧代羧酸代谢	1.991	0.008
L-苯丙氨酸	2-氧代羧酸代谢/ ABC转运蛋白	1.613	<0.001
L-色氨酸	氨基酸的生物合成/ 2-氧代羧酸代谢	1.315	0.008
L-缬氨酸	2-氧代羧酸代谢/ ABC转运蛋白	1.221	0.011
麦芽三糖	ABC转运蛋白	5.669	<0.001
α,α-海藻糖	ABC转运蛋白	5.305	<0.001
2'-脱氧肌苷	ABC转运蛋白	3.614	0.001

细胞应对 PS-NPs 诱导 ROS 过量产生的抗氧化应激反应。

2-氧代羧酸是柠檬酸循环的关键中间产物,也是糖类、脂类和氨基酸代谢的关键枢纽^[33]。其中,2-氧代丁酸和 4-甲基-2-氧代戊酸酯作为支

表 3 高浓度组 v.s. 低浓度组中肋骨条藻主要代谢通路的相关代谢物质

Tab.3 Metabolites related to the major metabolic pathways in *S. costatum* in high concentration v.s. low concentration group

名称	路径	差异倍数	p值
L-谷氨酰胺	氨基酸的生物合成/ ABC转运蛋白	6.012	<0.001
β-D-果糖-6-磷酸	氨基酸的生物合成	2.406	<0.001
2-酮戊二酸	氨基酸的生物合成/ 2-氧代羧酸代谢	1.913	0.002
4-甲基-2-氧代戊酸	氨基酸的生物合成/ 2-氧代羧酸代谢	2.364	<0.001
L-缬氨酸	2-氧代羧酸代谢/ ABC转运蛋白	1.931	<0.001
2-酮戊二酸	氨基酸的生物合成/ 2-氧代羧酸代谢	2.156	<0.001
2-氧代丁酸	氨基酸的生物合成/ 2-氧代羧酸代谢	1.997	<0.001
L-色氨酸	氨基酸的生物合成/ 2-氧代羧酸代谢	1.224	0.048
α,α-海藻糖	ABC转运蛋白	7.225	<0.001
麦芽三糖	ABC转运蛋白	7.009	<0.001
2'-脱氧肌苷	ABC转运蛋白	2.059	0.009
核黄素	ABC转运蛋白	1.571	0.024

链氨基酸(异亮氨酸、亮氨酸)代谢中间体,可转化为乙酰辅酶 A 进入柠檬酸循环,为细胞供应能量;2-酮戊二酸则是碳、氮代谢的核心节点^[34]。这些代谢物的上调与转录组中柠檬酸循环的相关基因表达量上调相互吻合,表明细胞通过增强能量代谢支持抗氧化防御以抵抗纳米塑料胁迫。

Sun 等^[34]研究发现,微塑料与变暖共同诱导三角褐指藻(*P. tricornutum*)上调 2-酮戊二酸促进柠檬酸循环,与本研究发现相符。

ABC 转运蛋白利用 ATP 水解供能驱动分子跨膜转运以维持细胞稳态^[35]。其内向转运促进细胞摄入氨基酸、糖类等营养物质^[36];外向转运则排出毒素以缓解胁迫,提升存活率。本研究中相关代谢物(α,α -海藻糖、麦芽三糖、2'-脱氧肌苷等)上调,可能反映了微藻通过加强跨膜转运能力,排出有害物质以应对氧化应激。但也有学者指出,ABC 转运蛋白途径的上调可能促进胞外聚合物的积累,影响光捕获能力,抑制光合作用及生长^[37]。

3 结论

(1)在高、低浓度 PS-NPs 影响下,中肋骨条藻的生长和叶绿素 *a* 含量均受到明显抑制,且抑制作用随 PS-NPs 浓度增大而增强。

(2)PS-NPs 对中肋骨条藻的毒性机制包括:抑制脂肪酸链延伸,诱导甘油磷脂合成受阻,损伤细胞膜,促进 ROS 过度产生和积累,引发氧化损伤;降低光系统 II 效率,减弱光捕获能力,抑制光合作用。

(3)为了减轻毒性,中肋骨条藻上调抗氧化系统相关基因表达水平,提升抗氧化酶活性,并储备抗氧化物质,建立防御屏障,高效清除有毒自由基以维持细胞内氧化还原平衡,减轻氧化损伤;通过 2-氧代羧酸代谢促进柠檬酸循环,并上调糖酵解和氧化磷酸化相关基因表达,加强能量供给,抵抗氧化应激;加强跨膜运输能力,利用 ABC 转运蛋白外排有毒物质,减轻细胞生长压力以应对纳米塑料诱导的氧化应激。

参考文献:

- [1] Thompson R C, Olsen Y, Mitchell R P, et al. Lost at sea: where is all the plastic?[J]. *Science*, 2004, 304(5672): 838.
- [2] Wang S C, Gao Z Y, Liu F F, et al. Effects of polystyrene and triphenyl phosphate on growth, photosynthesis and oxidative stress of *Chaetoceros muelleri*[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 797: 149180.
- [3] Materić D, Holzinger R, Niemann H. Nanoplastics and ultra-fine microplastic in the Dutch Wadden Sea – The hidden plastics debris?[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 846: 157371.
- [4] Materić D, Kjør H A, Vallelonga P, et al. Nanoplastics measurements in Northern and Southern polar ice[J]. *Environmental Research*, 2022, 208: 112741.
- [5] Besseling E, Redondo-Hasselerharm P, Foekema E M, et al. Quantifying ecological risks of aquatic micro- and nanoplastic[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2019, 49(1): 32-80.
- [6] González-Pleiter M, Tamayo-Belda M, Pulido-Reyes G, et al. Secondary nanoplastics released from a biodegradable microplastic severely impact freshwater environments[J]. *Environmental Science: Nano*, 2019, 6(5): 1382-1392.
- [7] Kim L, Cui R X, Il Kwak J, et al. Trophic transfer of nanoplastics through a microalgae–crustacean–small yellow croaker food chain: Inhibition of digestive enzyme activity in fish[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 440: 129715.
- [8] Liao H P, Gao D D, Kong C M, et al. Trophic transfer of nanoplastics and di(2-ethylhexyl) phthalate in a freshwater food chain (*Chlorella Pyrenoidosa*-*Daphnia magna*-*Micropterus salmoides*) induced disturbance of lipid metabolism in fish[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 459: 132294.
- [9] Chan H H S, Not C. Variations in the spatial distribution of expanded polystyrene marine debris: Are Asian's coastlines more affected?[J]. *Environmental Advances*, 2023, 11: 100342.
- [10] Yang T, Nowack B. A meta-analysis of ecotoxicological hazard data for nanoplastics in marine and freshwater systems[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2020, 39(12): 2588-2598.
- [11] Berdalet E, Fleming L E, Gowen R, et al. Marine harmful algal blooms, human health and wellbeing: challenges and opportunities in the 21st century[J]. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 2016, 96(1): 61-91.
- [12] Bidle K D. Programmed cell death in unicellular phytoplankton[J]. *Current Biology*, 2016, 26(13): R594-R607.
- [13] Bidle K D, Falkowski P G. Cell death in planktonic, photosynthetic microorganisms[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2004, 2(8): 643-655.
- [14] Long M, Paul-pont I, Hégaret H, et al. Interactions between polystyrene microplastics and marine phytoplankton lead to species-specific hetero-aggregation[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 228: 454-463.
- [15] Wang S Y, Liu M H, Wang J M, et al. Polystyrene nanoplastics cause growth inhibition, morphological damage and physiological disturbance in the marine microalga *Platymonas helgolandica*[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 158: 111403.

- [16] Mao Y F, Ai H N, Chen Y, et al. Phytoplankton response to polystyrene microplastics: Perspective from an entire growth period[J]. *Chemosphere*, 2018, 208: 59-68.
- [17] Field C B, Behrenfeld M J, Randerson J T, et al. Primary production of the biosphere: Integrating terrestrial and oceanic components[J]. *Science*, 1998, 281(5374): 237-240.
- [18] Sorokina M, Barth E, Zulfıqar M, et al. Draft genome assembly and sequencing dataset of the marine diatom *Skeletonema cf. costatum* RCC75[J]. *Data in Brief*, 2022, 41: 107931.
- [19] Bilal M, Rasheed T, Sosa-hernández J E, et al. Biosorption: an interplay between marine algae and potentially toxic elements—a review[J]. *Marine Drugs*, 2018, 16(2): 65.
- [20] Hou X, Hu X G, Mu L, et al. Heatwaves increase the polystyrene nanoplastic-induced toxicity to marine diatoms through interfacial interaction regulation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2025, 483: 136703.
- [21] Sendra M, Staffieri E, Yeste M P, et al. Are the primary characteristics of polystyrene nanoplastics responsible for toxicity and ad/absorption in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*?[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 249: 610-619.
- [22] Zhang Y Y, Ju J, Li M, et al. Dose-dependent effects of polystyrene nanoplastics on growth, photosynthesis, and astaxanthin synthesis in *Haematococcus pluvialis*[J]. *Environmental Pollution*, 2024, 359: 124574.
- [23] Zhao Z L, Zheng X Y, Han Z S, et al. Polystyrene microplastics enhanced the effect of PFOA on *Chlorella sorokiniana*: Perspective from the cellular and molecular levels[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 465: 133455.
- [24] Yang W F, Gao P, Li H X, et al. Mechanism of the inhibition and detoxification effects of the interaction between nanoplastics and microalgae *Chlorella pyrenoidosa*[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 783: 146919.
- [25] Li J, Zheng X W, Liu X L, et al. Effect and mechanism of microplastics exposure against microalgae: photosynthesis and oxidative stress[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 905: 167017.
- [26] Zou W, Zhou Q X, Zhang X L, et al. Environmental transformations and algal toxicity of single-layer molybdenum disulfide regulated by humic acid[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(5): 2638-2648.
- [27] Feng L J, Sun X D, Zhu F P, et al. Nanoplastics promote microcystin synthesis and release from cyanobacterial *Microcystis aeruginosa*[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(6): 3386-3394.
- [28] Xu M X, Zhu F P, Yang Y Y, et al. Mechanism of transport and toxicity response of *Chlorella sorokiniana* to polystyrene nanoplastics[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2024, 270: 115901.
- [29] Niu Z Y, Vandegehuchte M B, Catarino A I, et al. Environmentally relevant concentrations and sizes of microplastic do not impede marine diatom growth[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 409: 124460.
- [30] Li Q C, Lai Y J, Li P, et al. Evaluating the occurrence of polystyrene nanoparticles in environmental waters by agglomeration with alkylated ferroferric oxide followed by micropore membrane filtration collection and Py-GC/MS analysis[J]. *Environmental Science & Technology*, 2022, 56(12): 8255-8265.
- [31] Zhao L J, Huang Y X, Keller A A. Comparative metabolic response between cucumber (*Cucumis sativus*) and corn (*Zea mays*) to a Cu(OH)₂ nanopesticide[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(26): 6628-6636.
- [32] Majumdar S, Pagano L, Wohlschlegel J A, et al. Proteomic, gene and metabolite characterization reveal the uptake and toxicity mechanisms of cadmium sulfide quantum dots in soybean plants[J]. *Environmental Science: Nano*, 2019, 6(10): 3010-3026.
- [33] Ferreira S, Pereira R, Liu F, et al. Discovery and implementation of a novel pathway for *n*-butanol production via 2-oxoglutarate[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2019, 12(1): 230.
- [34] Sun S, Hu X G, Kang W L, et al. Combined effects of microplastics and warming enhance algal carbon and nitrogen storage[J]. *Water Research*, 2023, 233: 119815.
- [35] Amarnani R, Revdekar A, Salvi B, et al. Potential of nanocarriers using ABC transporters for antimicrobial resistance[J]. *Drug Discovery Today*, 2023, 28(5): 103570.
- [36] Campos A, Araújo P, Pinheiro C, et al. Effects on growth, antioxidant enzyme activity and levels of extracellular proteins in the green alga *Chlorella vulgaris* exposed to crude cyanobacterial extracts and pure microcystin and cylindrospermopsin[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2013, 94: 45-53.
- [37] Zhang Y F, Ai S H, Chen X, et al. The accumulation and inhibition mechanism of extracellular polymeric substances of *Chlorella vulgaris* during cycling cultivation under different light qualities[J]. *Journal of Environmental Management*, 2024, 371: 123176.

(本文编辑: 胡莹莹)