

不同大小微塑料与草甘膦单一及联合胁迫对紫萍的影响

官渝¹, 陈茵², 杨永清¹

¹重庆师范大学生命科学学院, 重庆

²重庆市第十八中学, 重庆

收稿日期: 2024年11月11日; 录用日期: 2025年1月7日; 发布日期: 2025年1月17日

摘要

微塑料污染对生态系统和人类健康具有一定影响, 已成为世界上最严重的环境问题之一。近年来, 微塑料对植物生长和发育的影响受到了广泛关注。其不仅可以对植物形成直接胁迫, 还可以通过吸附其他有机或无机污染物, 形成联合污染。本研究主要探索了不同大小、微塑料分别与草甘膦联合胁迫对漂浮植物紫萍的生态毒性效应。实验结果表明: 草甘膦显著减少了紫萍根的数目, PS及其大小对紫萍的根的数目并无显著影响; 维生素C, 可溶性糖, 可溶性蛋白, SOD和APX活性进一步提高, 大大降低了草甘膦带来的抑制作用, 微米塑料诱导SOD和POD活性的增加, 而纳米塑料则主要诱导POD和APX活性的增加。

关键词

紫萍, 微塑料, 草甘膦, 单一污染, 联合胁迫

The Effects of Different Sizes of Microplastics and Glyphosate Single and Combined Stress on Purple Duckweed

Yu Guan¹, Yin Chen², Yongqing Yang¹

¹College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing

²Chongqing No.18 Middle School, Chongqing

Received: Nov. 11th, 2024; accepted: Jan. 7th, 2025; published: Jan. 17th, 2025

Abstract

Microplastic pollution has a certain impact on ecosystems and human health, and has become one

文章引用: 官渝, 陈茵, 杨永清. 不同大小微塑料与草甘膦单一及联合胁迫对紫萍的影响[J]. 植物学研究, 2025, 14(1): 21-35. DOI: 10.12677/br.2025.141003

of the most serious environmental problems in the world. In recent years, the impact of microplastics on plant growth and development has received widespread attention. It can not only directly stress plants, but also form joint pollution by adsorbing other organic or inorganic pollutants. This study mainly explored the ecological toxicity effects of different sizes and microplastics combined with glyphosate stress on floating plant purple duckweed. The experimental results showed that glyphosate significantly reduced the number of purple duckweed roots, while PS and its size had no significant effect on the number of purple duckweed roots; Vitamin C, soluble sugars, soluble proteins, SOD and APX activities were further increased, greatly reducing the inhibitory effect of glyphosate. Microplastics induced an increase in SOD and POD activities, while nanoplastics mainly induced an increase in POD and APX activities.

Keywords

Purple Duckweed, Microplastics, Glyphosate, Single Pollution, Combined Stress

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

微塑料的生物毒性与其多聚体组成类型、颗粒大小、形状、浓度、表面电荷等密切相关。除草剂草甘膦因其高效性和广谱性，应用最为广泛。虽然微塑料和草甘膦单独对植物生长的影响已有较多报道，但有关联合污染的报道仍然较少。尤其是，了解影响微塑料毒性的自身特性如何影响草甘膦的毒性行为，对水生生态系统生物多样性和生态系统功能的维持，水资源的管理和污染治理，具有重要意义。

植物对微塑料(microplastics, MPs)的吸收和运输效率主要取决于颗粒的大小，近年来的研究表明，粒径小于 3.0 μm 的聚苯乙烯(polystyrene, PS)可被高等植物根系吸收[1]-[3]，虽然大型微塑料不能被植物根吸收，但它们可能会在植物根上积累；小的塑料颗粒，特别是纳米塑料(nanoplastics, NPs)，可以很容易地进入根组织，并在整个细胞间隙积累。然而，由于目前检测技术的局限性，对于植物可吸收和运输的 MPs 颗粒的最大直径还没有准确的结论[4]。另一个常见的现象是，当 MPs 粒子进入植物时，它们往往会形成结块，这些结块的大小通常是单个 MPs 的数百倍，并可能堵塞植物筛板[5]。微塑料尺寸大小影响其对其他污染物的吸附和富集，较小的纳米塑料常常能够吸附更多的其他污染物[6]。

PS 占全球塑料总产量的 6.1% [7]，广泛存在于日常用品中，例如泡沫饭盒、塑料瓶、化妆品中[8] [9]，导致分解后的 PS 微塑料广泛存在于被污染的水体中。本实验旨在探索纳米(80 nm)和微米(5 μm)PS 与草甘膦联合胁迫对漂浮植物紫萍生长影响的差异性。

2. 材料与方法

2.1. 材料

本实验所选用的污染物为草甘膦盐(G: Glyphosate, $\geq 95\%$, 南京都莱生物技术有限公司)和微塑料(M: Microplastics, 海安智川电池材料科技有限公司)，主要探究不同大小微塑料与草甘膦联合胁迫对紫萍的影响，本实验将草甘膦浓度设置为 0、5、20 mg/L，微塑料浓度设置为 0、5、50 mg/L，将两种污染物浓度完全随机组合，共计 9 个处理，分别是：M0G0，M0G5，M0G20，M5G0，M5G5，M5G20，M50G0，M50G5，M50G20，在后面的结果和讨论部分，当涉及联合胁迫的表述时，将 M5G5 定义为轻度联合胁迫。

迫,将 M5G20 和 M50G5 定义为中度联合胁迫,而将 M50G20 定义为重度联合胁迫。每个处理 4 个重复。在研究微塑料大小与草甘膦联合胁迫对紫萍的影响时,分别选择 80 nm 和 5 μm 的 PS。

7 天的预培养结束后,选择生长健康、大小一致、新鲜、生长快速、无可见损伤或变色的紫萍培养(200 mL Hogland's 营养液中)在规格相同的透明培养皿中,进行胁迫处理 7 天,每 48 小时更换溶液与污染物,以维持营养物质和污染物的浓度相同,正式实验的培养条件与预培养完全一致。培养结束后,测定紫萍的鲜重、根长、根数、相对生长速率(RGR),叶绿体色素、可溶性蛋白、可溶性糖、花青素、维生素 C、脯氨酸、丙二醛(MDA)含量,POD、SOD、APX、CAT 活性。

2.2. 指标测量

2.2.1. 植株生长指标

在实验开始前和结束后,测量紫萍的形态指标。

① 鲜重:将材料在纸上吸干水分,晾置两分钟后,使用电子分析天平(精确度 0.1 mg)测量每组的重量。

② 根:随机选取植株,记录其根的数量(n),并测量其每条根的长度。并计算平均根长(cm) = 一株完整植株所有根长之和/总根数。

③ 相对生长速率(RGR) = $[\text{Ln}(\text{最终生物量}) - \text{Ln}(\text{初始生物量})]/\Delta t$ ($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$) (Δt 为实验时间,生物量以植株鲜重计算)。

2.2.2. 叶绿体色素含量测定

光合色素含量的测定采用 Jampeetong [10]的方法。取植物叶片 0.1 g,加入 4 ml 95%的无水乙醇,使植物完全浸没在乙醇中,密封放置,在黑暗条件下静置过夜提取。以 95%的乙醇作为空白对照,在 470 nm、649 nm 和 665 nm 波长下比色。色素含量计算公式如下:

$$\text{Ca (叶绿素 a)} = 13.95 A_{665} - 6.8 A_{649}$$

$$\text{Cb (叶绿素 b)} = 24.96 A_{649} - 7.32 A_{665}$$

$$\text{Cxc (类胡萝卜素)} = (1000 A_{470} - 2.05 \text{Ca} - 114.8 \text{Cb})/245$$

$$\text{C (总光合色素)} = 18.16 A_{649} + 6.63 A_{665}$$

$$\text{光合色素含量(mg/g)} = (\text{C}\cdot\text{V}\cdot\text{N})/(\text{W}\cdot 1000)$$

C——色素浓度 mg/L, V——提取液体积 mL, N——稀释倍数, W——样品鲜重 g。

测定叶绿素时,吸光值差距较小,因此采用高精度仪器。本实验采用 Thermo Fisher Scientific 电子分光光度计,减少实验误差。

2.2.3. MDA、花青素和维生素 C 含量测定

① MDA 含量测定[11]

称取植物叶片 0.1 g,加入 10%三氯乙酸溶液 2 mL 进行研磨,研磨液在 4000 rpm 下离心 10 min 留上清,在上清中加入 0.67%硫代巴比妥酸溶液 2 mL(对照管加 2 mL 蒸馏水),摇匀后,将混合液在沸水浴中反应 15 min,冷却后在 4000 rpm 离心 15 min,分别在 532、600 和 450 nm 处测定上清液的吸光值:

$$\text{MDA 浓度}(\mu\text{mol/L}) = 6.45 (A_{532} - A_{600}) - 0.56 A_{450}$$

$$\text{MDA 含量}(\mu\text{mol/g}) = (\text{C}\cdot\text{V}_2\cdot\text{V})/(\text{W}\cdot\text{V}_1\cdot 1000)$$

C——待测液可溶性糖/MDA 浓度 $\mu\text{mol/L}$; V——提取液总体积 mL; V_1 ——待测液中加入的样品提取液体积 mL; V_2 ——待测液总体积 mL; W——样品鲜重 g。

② 维生素 C 含量测定[12]

称取 0.1 g 叶片, 另少量加入 1 mL 草酸-EDTA 磨成匀浆, 转移入离心管, 提取液总体积为 5 mL, 3000 g 下离心 10 min。摇匀后于常温下保温 15 min 后在 760 nm 下比色。

Vc 含量(mg/g, FW) = (曲线上查得含量 × 提取液体积)/样品鲜重

③ 花青素含量测定[13]

取新鲜材料 0.1 g, 加入 10 ml 1% HCl-甲醇溶液(w/v), 并在 4℃ 下保持过夜后过滤样品提取物, 以 1% HCl-甲醇溶液为空白, 在 530 和 657 nm 处测定吸光度。

花青素含量(nmol/g) = $A_{530} - 0.33 A_{657}$ 。

2.3.4. 脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量测定

① 脯氨酸含量测定[12]

称取剪碎的植物叶片 0.2 g, 置于试管中, 加入 5 mL 3% 磺基水杨酸溶液, 玻璃球塞封口, 于沸水浴中浸提 10 min。取出试管, 冷却至室温。3000 r/min 离心 10 min。取上清液 2 mL, 加入 2 mL 3% 磺基水杨酸(空白用 2 mL 蒸馏水代替), 2 mL 冰乙酸, 3 mL 2.5% 酸性茚三酮显色液于具塞玻璃试管中, 混匀后于沸水浴中显色 30 min。取出冷却后, 向各管加入 5 mL 甲苯, 并充分振荡, 以萃取红色物质。静置、分层。用注射器(或移液管)吸取上层甲苯层, 在 520 nm 波长下比色。从标准曲线查得(或用回归方程计算)样品比色液中脯氨酸含量, 然后计算样品中脯氨酸含量($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)。

② 可溶性糖含量测定[11]

测定方法见 2.3.3 MDA 含量测定。

计算: 可溶性糖浓度($\mu\text{mol/L}$) = $11.7 A_{450}$

可溶性糖含量($\mu\text{mol/g}$) = $(C \cdot V_2 \cdot V) / (W \cdot V_1 \cdot 1000)$

C——待测液可溶性糖/MDA 浓度 $\mu\text{mol/L}$; V——提取液总体积 mL; V_1 ——待测液中加入的样品提取液体积 mL; V_2 ——待测液总体积 mL; W——样品鲜重 g。

③ 可溶性蛋白含量测定

将 0.1 g 新鲜叶片放入含磷酸盐缓冲溶液(50 mM, pH 7.8, 内含 1% PVP)中, 在冰浴下研磨, 研磨液在 4℃ 下 10000 g 离心 15 min, 收集上清液, 置于 4℃ 冰箱中保存[11]。

可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定[13]。在 595 nm 下比色, 对照标准曲线得到样液中的蛋白质浓度, 并按照下列公式计算出样品蛋白质含量。

蛋白质含量(mg/g) = $(C \cdot V) / (W \cdot V_1 \cdot 1000)$

其中 C——查的标准曲线值, 可溶性蛋白浓度 $\mu\text{g/mL}$; V——提取液总体积 mL; V_1 ——测定时加样量 mL; W——样品鲜重 g。

2.2.5. 抗氧化酶活性测定

酶液制备见 2.2.4 可溶性蛋白含量测定。

使用 NBT(氮蓝四唑)光化还原法测定 SOD 活性[12]。设置两支对照组测定管, 用 0.05 mL 磷酸缓冲液代替粗酶提取液, 其中一支进行遮光暗处理, 作为样品空白, 反应结束后在 560 nm 处测定各管的吸光度值。使用愈创木酚法测定 POD 活性[12]。用磷酸缓冲液代替酶液调零, 在波长为 470 nm 处测定吸光度值, 每隔 1 min 读数一次, 共计 5 次。CAT 活性使用紫外吸收法测定[12]。通过不加酶液的对照校零, 在 240 nm 波长下测定吸光度, 每一分钟进行一次读数, 共计四次。APX 活性的测定参考张治安[12]的方法。立即测量 290 nm 波长下的吸光度, 每 1 min 读取一次, 总共 4 次。

SOD (U/g) = $[(A_{ck} - A_E) V_T] / 0.5 \cdot A_{ck} \cdot W \cdot V_2$

POD (U/g) = $\Delta A_{470} \cdot V / 0.01 \cdot W \cdot V_1 \cdot t$

$$\text{CAT (U/g)} = \Delta A_{240} * V / 0.01 * W * V_1 * t$$

$$\text{APX (U/g)} = \Delta A_{290} * V / 0.01 * W * V_1 * t$$

A_{ck} ——照光对照管的吸光度； A_E ——样品管的吸光度； V_T ——样品液总体积 mL；

V_2 ——测定时样品用量 mL； W ——样品鲜重 g； V ——提取酶液总体积。

ΔA_{470} 、 ΔA_{240} 、 ΔA_{290} ——反应时间内吸光度的变化；

V_1 ——测定所用酶液体积 mL； t ——反应时间 min。

2.3. 统计分析

采用统计软件 SPSS 26.0 对所有数据进行分析。分析前先检验数据的正态分布和方差齐次性。采用二元方差分析(Two-way ANOVA)分析草甘膦、微塑料的主效应以及二者的交互作用；采用一元方差分析(One-way ANOVA)分析同一大小微塑料类型差异性，并以 LSD 检验进行事后多重比较；采用 T 检验比较同一浓度处理时，不同大小、电荷或者微塑料类型之间的差异显著性，所有数据均在显著水平 $p=0.05$ 上进行检验并采用 Excel 整理绘图。

3. 结果

3.1. 相对生长速率(RGR)，根长，根数

草甘膦、微塑料及其互作对紫萍的 RGR 和根长均有显著影响。实验证明：草甘膦显著影响根的数目，而微塑料对根的数目并无显著作用。单独作用的草甘膦对紫萍的生长具有显著的抑制作用，抑制程度随着浓度的增加而显著增加。单一微塑料(PS)则对紫萍生长的影响与 PS 的大小密切相关，微米(5 μm)塑料促进其生长，而纳米(80 nm)则抑制其生长。当草甘膦和微塑料联合胁迫时，总体而言，两种污染物表现出显著的拮抗效应，无论是微米塑料还是纳米塑料，均显著抵消了草甘膦的抑制效果，当 PS 浓度较低时，纳米颗粒效果更佳，但当 PS 浓度高时，微米塑料效果较大。实验结果表明，草甘膦和微塑料均显著抑制紫萍根的长度，单独的草甘膦对根长度的影响较大，而单独的微塑料对根长度没有明显的影响。当两种污染物联合胁迫时，总体表现为协同作用，使得草甘膦的抑制作用更加显著。草甘膦显著减少了紫萍根的数目，PS 及其大小对紫萍的根的数目并无显著影响。(表 1，图 1)。

Table 1. Two-way ANOVA on the main effects of glyphosate and microplastics, as well as the impact of their interaction of *S. polyrrhiza* (mean \pm SD, $n = 4$)

表 1. 二元方差分析草甘膦、微塑料的主效应以及二者的交互作用对紫萍的影响(平均值 \pm 标准差，四个重复)

颗粒大小 主效应	F (80 nm)	80 nm F(G)	F (G \times 80 nm)	F (5 μm)	5 μm F (G)	F (G \times 5 μm)
RGR	4.207*	8381.678***	545.326***	272.763***	8788.796***	133.441***
根长	48.453***	281.12***	17.152***	52.82***	498.418***	34.725***
根数	0.934	172.082***	0.713	2.135	199.788***	0.923
叶绿素 a	1.755	2.162	2.806*	6.502**	11.57***	5.494**
叶绿素 b	5.921**	17.046***	2.8*	3.782*	25.281***	8.06***
类胡萝卜素	4.681*	1.54	1.955	0.39	2.405	7.128***
总叶绿素	2.313	8**	1.435	6.486**	19.94***	7.099***
MDA	68.289***	77.11***	39.038***	2.22	173.949***	37.165***
花青素	17.179***	216.978***	43.774***	238.708***	3392.284***	400.927***

续表

维生素 C	238.899***	216.192***	64.641***	4.138*	70.636***	1.744
脯氨酸	270.179***	10439.212***	1143.018***	7.6**	2462.958***	26.418***
可溶性糖	243.831***	364.353***	25.121***	1.086	16.915***	23.742***
可溶性蛋白	13.064***	85.867***	13.188***	0.62	37.715***	1.453
CAT	312.255***	188.936***	51.116***	853.995***	299.55***	308.428***
SOD	103.401***	376.889***	74.743***	9.398***	37.772***	16.735***
POD	15.735***	1837.5***	24.912***	31.795***	1001.888***	38.803***
APX	14.039***	70.755***	26.611***	23.883***	35.173***	32.105***

注: G: 草甘膦。*, **, ***分别表示 $p < 0.05$, $p < 0.01$ 和 $p < 0.001$ 的显著水平。

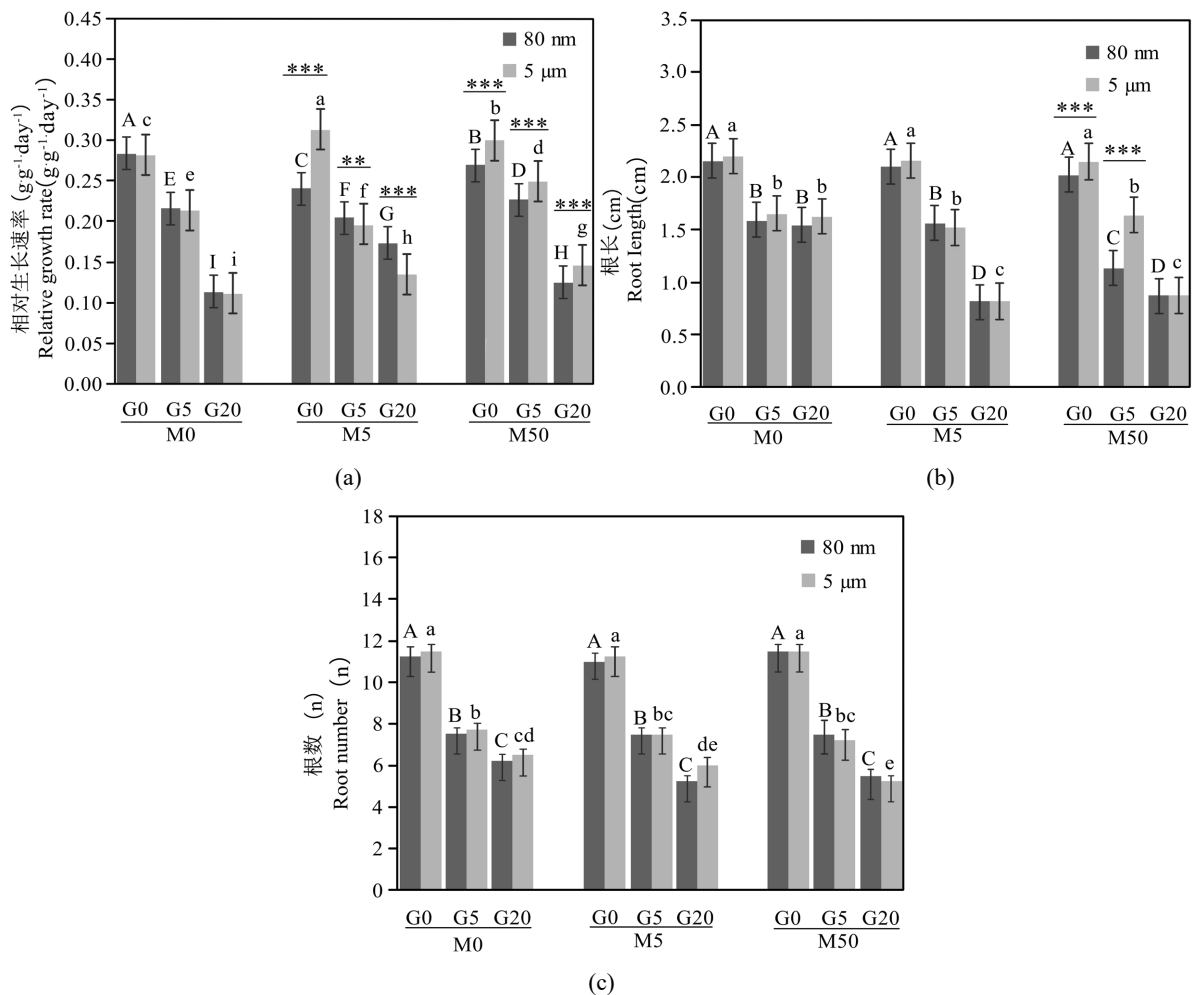


Figure 1. The effects of single and combined stress of 80 nm and 5 μm plastic particles and glyphosate on RGR (a), root length (b), and root numbers (c) of *S. polyrrhiza*. (The uppercase and lowercase letters indicate significant differences between the 80 nm and 5 μm treatment groups, $P < 0.05$. “***” represents significant differences between different sizes at the same concentration, “*, **, ***” indicate significant levels of $P < 0.05$, $P < 0.01$, and $P < 0.001$, mean \pm SD, $n = 4$, the same below)

图 1. 80 nm、5 μm 塑料与草甘膦单一及联合胁迫对紫茸 RGR(a)、根长(b)和根数(c)的影响。(大小写字母分别表示 80 nm、5 μm 处理组的显著性差异, $P < 0.05$; *表示同一浓度下不同尺寸间显著性差异, “*, **, ***” 分别表示 $P < 0.05$, $P < 0.01$ 和 $P < 0.001$ 的显著水平, 平均值 \pm 标准差, 4 个重复, 下同)

3.2. 叶绿体色素含量测定

单一的草甘膦和单一的微米塑料均显著降低了紫萍叶绿素 a 的含量。无论是纳米塑料还是微米塑料，在重度联合胁迫中，草甘膦和 PS 的相互作用几乎完全抵消了单一污染物的抑制效果。草甘膦、PS 及其交互作用均显著影响紫萍叶绿素 b 和总叶绿素含量。单一草甘膦处理随浓度增加，叶绿素 b 的含量受到显著抑制，单一 PS 处理中，低浓度的纳米颗粒对叶绿素 b 具有促进作用，而微米颗粒则无显著影响。当两种污染物共存时，纳米颗粒能够较好地抵消草甘膦带来的负面影响。单一草甘膦显著降低总叶绿素含量，这种抑制作用能够被纳米 PS 颗粒较好的拮抗，高浓度的微米 PS 也能够使其恢复到对照水平。轻度联合胁迫(M5G5)对类胡萝卜素含量有明显的促进作用(表 1, 图 2)。

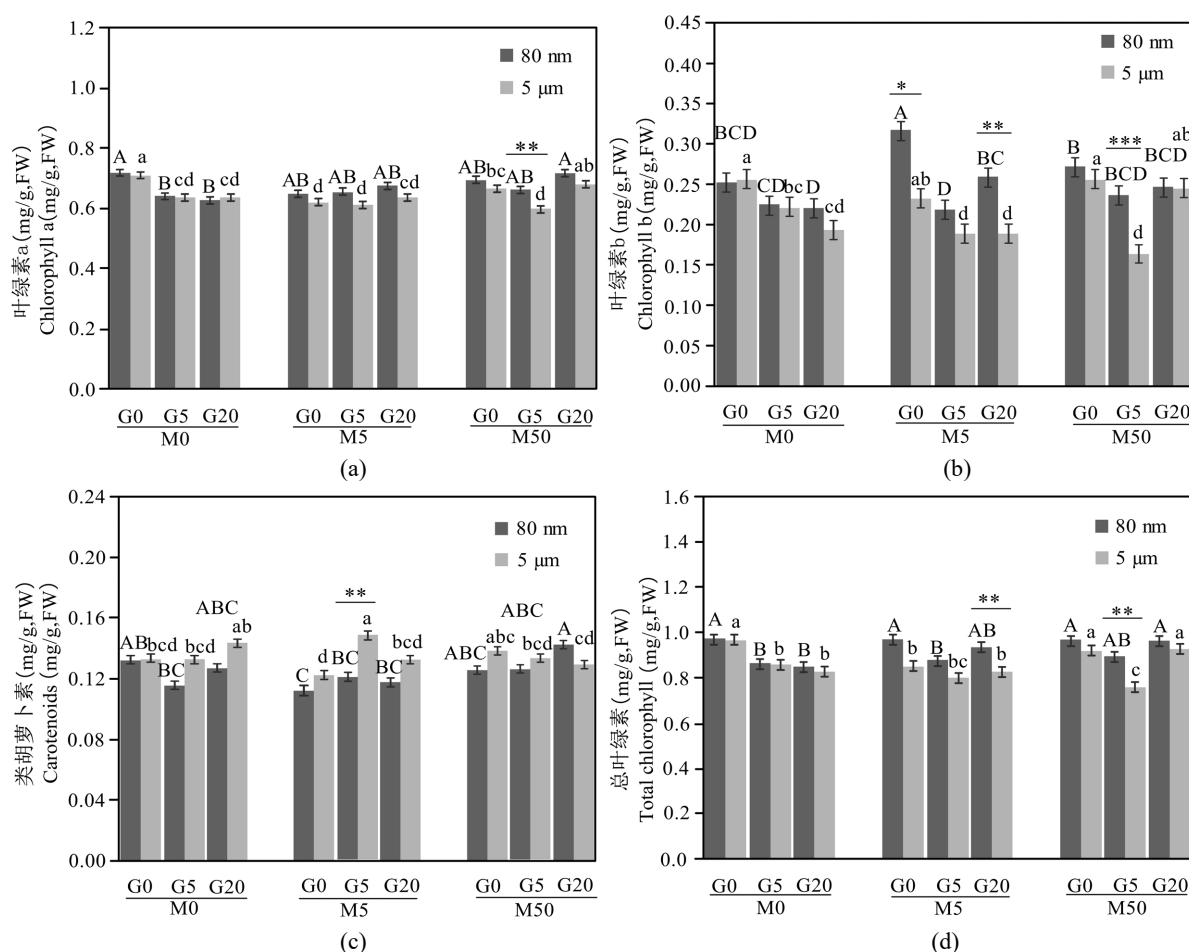


Figure 2. The effects of single and combined stress of 80 nm and 5 μm plastic particles and glyphosate on chlorophyll a (a), chlorophyll b (b), carotenoids (c), and total chlorophyll (d) of *S. polyrrhiza*

图 2. 80 nm、5 μm 塑料与草甘膦单一及联合胁迫对紫萍叶绿素 a(a)、叶绿素 b(b)、类胡萝卜素(c)和总叶绿素(d)的影响

3.3. 丙二醛(MDA)、花青素和维生素 C 含量测定

单一的 PS 处理时，随着浓度的增加，MDA 呈上升趋势，微米塑料表现更为显著。草甘膦和 PS 的交互作用对 MDA 的含量存在显著影响。联合胁迫时，MDA 的含量显著减少，两种污染物表现为拮抗效应。草甘膦、PS 及其交互对紫萍花青素的含量均存在显著影响。单一的草甘膦随着浓度的增加呈现显著

的抑制作用,而单一的 PS 对花青素表现为促进作用,且微米颗粒作用效果更加显著。当两种污染物联合胁迫时,花青素含量呈下降趋势,总体表现为拮抗作用。草甘膦和 PS 对紫萍维生素 C 含量均具有促进作用,二者的交互作用显著,表现为联合胁迫时负面影响显著增加,且在纳米颗粒中更为显著(表 1,图 3)。

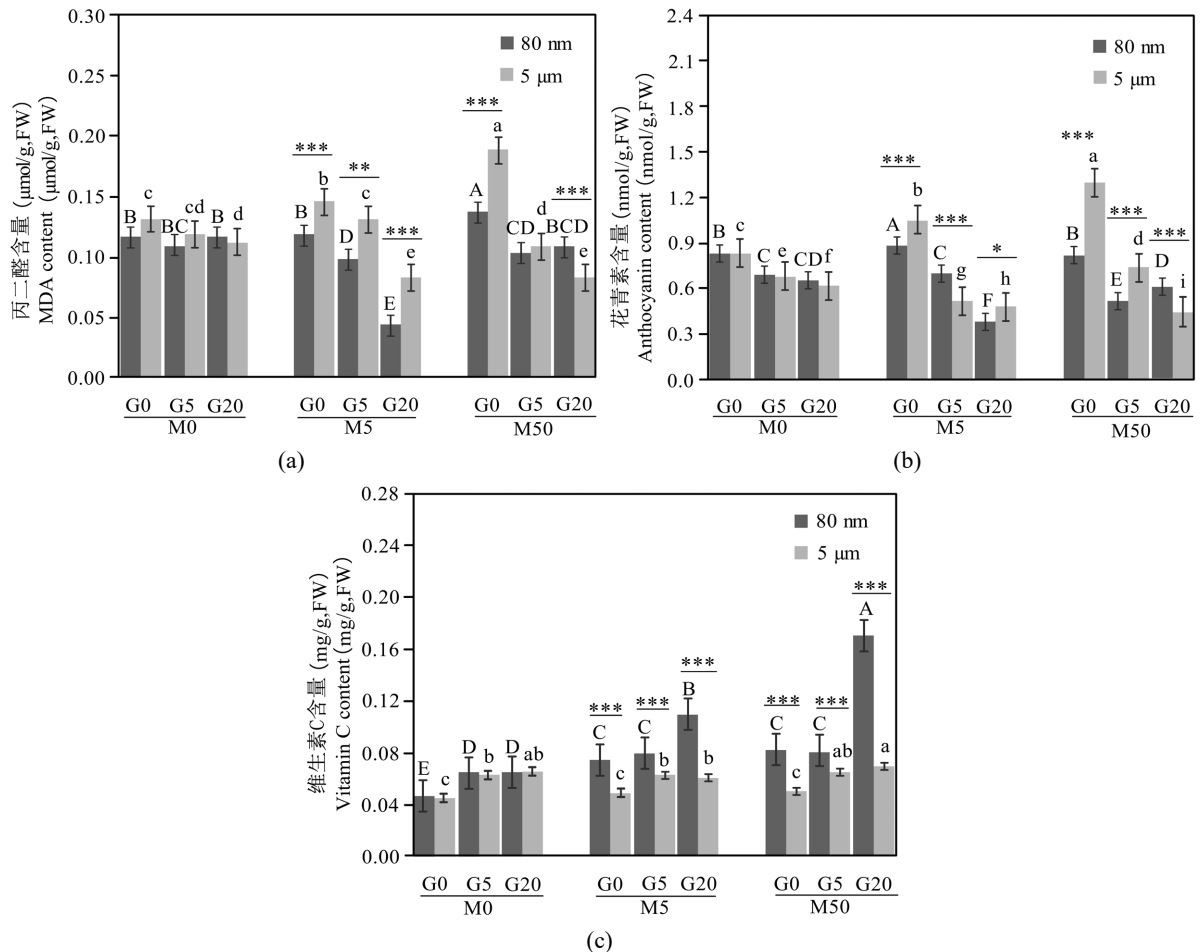


Figure 3. The effects of single and combined stress of 80 nm and 5 μm plastic particles and glyphosate on the content of MDA (a), anthocyanins (b), and vitamin C (c) of *S. polyrrhiza*

图 3. 80 nm、5 μm 塑料与草甘膦单一及联合胁迫对紫萍 MDA (a)、花青素(b)和维生素 C (c)含量的影响

3.4. 脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量测定

草甘膦和 PS 对紫萍脯氨酸的含量均有显著提高,且二者交互作用显著。单一草甘膦随浓度的增加,脯氨酸含量显著增加,且单独的 PS 处理时,纳米颗粒显著促进了脯氨酸含量的增加。当两种污染物联合暴露时,低浓度的草甘膦处理时表现为协同效应,高浓度草甘膦处理中表现为拮抗作用(表 1,图 4(a))。草甘膦和纳米塑料对紫萍可溶性糖含量具有显著影响,且与 PS 存在显著的交互作用。单一污染物处理时,草甘膦和纳米塑料均显著增加了紫萍可溶性糖的含量,而当两种污染物联合胁迫时,草甘膦的增加效应在纳米塑料存在时大幅度提升,但在微米塑料存在时显著下降(表 1,图 4(b))。在与纳米塑料的互做实验中,实验表明草甘膦和 PS 均显著提高了紫萍可溶性蛋白的含量,两者胁迫时增加幅度得到显著增加,表现为协同效应。而在微米塑料与草甘膦的联合胁迫实验中,仅草甘膦的主效应表现为显著增加可

溶性蛋白的含量(表 1, 图 4(c))。

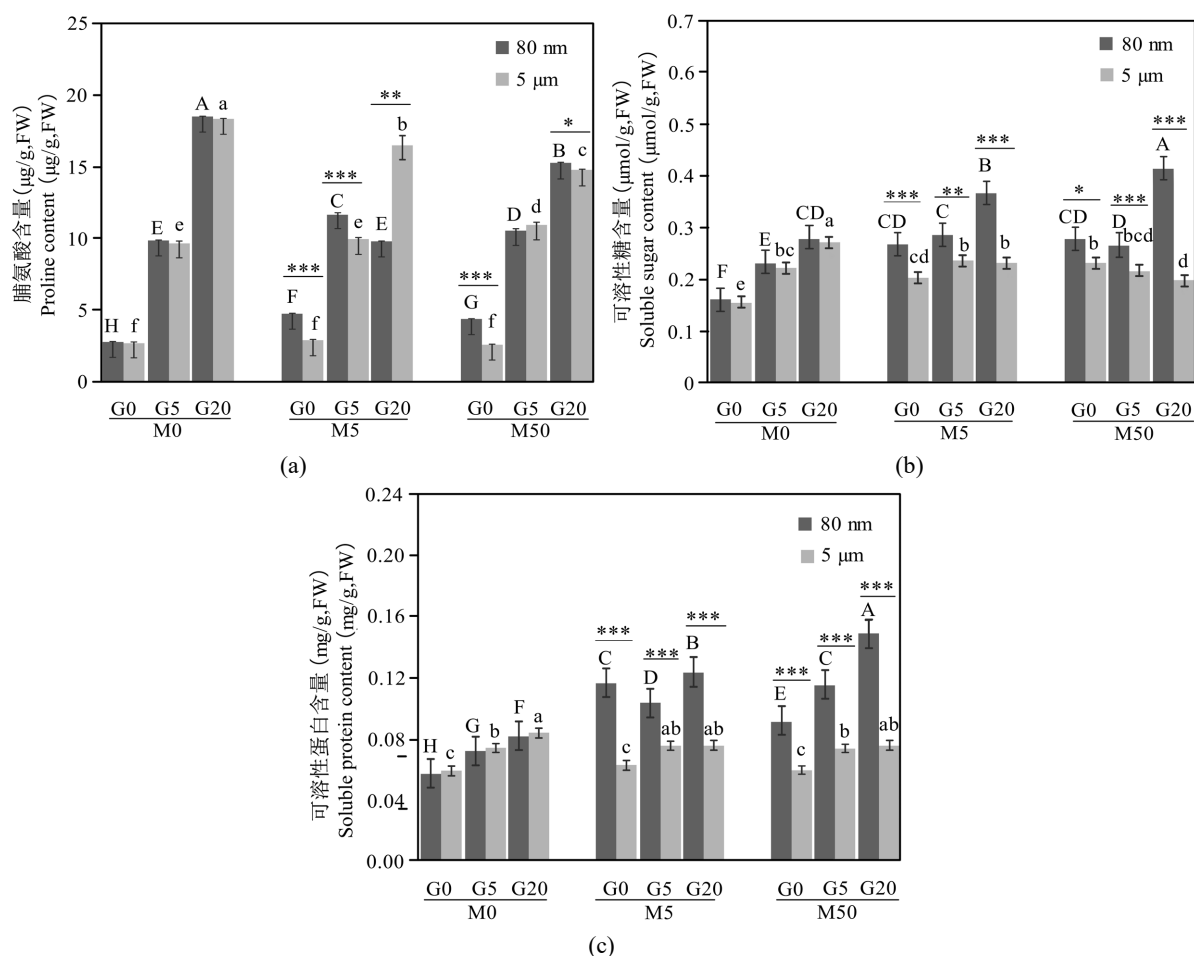


Figure 4. The effects of single and combined stress of 80 nm and 5 μm plastic particles and glyphosate on the content of proline (a), soluble sugar (b), and soluble protein (c) of *S. polyrrhiza*

图 4. 80 nm、5 μm 塑料与草甘膦单一及联合胁迫对紫萍脯氨酸(a)、可溶性糖(b)和可溶性蛋白(c)含量的影响

3.5. 抗氧化酶活性测定

草甘膦、微塑料及其交互作用对 SOD, POD, CAT 和 APX 的酶活性均有显著影响(表 1)。单一的草甘膦对紫萍 CAT 的影响随着浓度的增加呈现先降低后增加的趋势, 而单一的 PS 处理则有降低 CAT 活性的趋势。两种污染物联合胁迫时, 草甘膦的诱导作用被 PS 显著降低, 当草甘膦的浓度较低时, 低浓度的纳米塑料对草甘膦具有较高的抵消作用, 而当草甘膦为高浓度时或者微塑料为高浓度时, 微米塑料的抵消效果更佳(图 5(a))。

单一的草甘膦显著提高了 SOD 的活性, 当微塑料单独处理时, 微米塑料对 SOD 的活性有促进作用, 而纳米塑料则有降低作用。两种污染物联合胁迫时, 纳米塑料与草甘膦表现出极显著的协同效应, SOD 的活性进一步大幅度增加, 而微米塑料与草甘膦的相互作用抵消了草甘膦对 SOD 活性的增加(图 5(b))。

PS 和草甘膦对紫萍 POD 酶活性均有显著的促进作用, 但当两种污染物联合胁迫时, 低浓度的 PS 降低了高浓度草甘膦的影响, 而高浓度的微塑料则显著促进了低浓度草甘膦对 POD 酶活性的诱导作用(图 5(c))。

单一污染物胁迫时, 草甘膦和纳米塑料对 APX 活性呈现显著增加的趋势, 而单独的微米塑料则对 APX 活性表现出抑制趋势。当草甘膦浓度较低时, 两种污染物联合胁迫降低了草甘膦的提升作用, 而当草甘膦的浓度较高时两者则表现为协同效应, APX 的活性急剧增加, 而这种正协同效应在纳米塑料中显著高于微米塑料(图 5(d))。

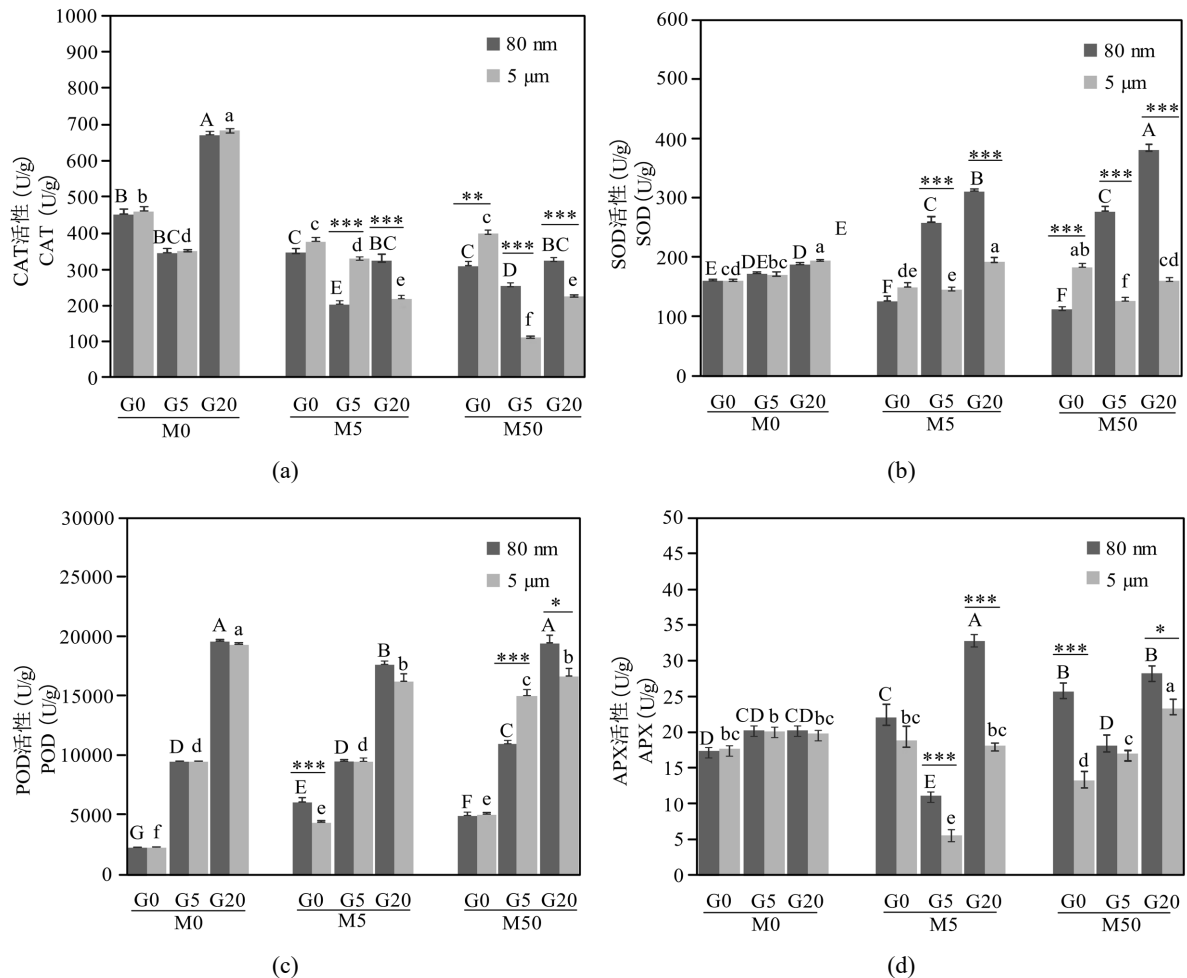


Figure 5. The effects of single and combined stress of 80 nm and 5 μm plastic particles and glyphosate on the activities of CAT (a), SOD (b), POD (c), and APX (d) of *S. polyrrhiza*

图 5. 80 nm、5 μm 塑料与草甘膦单一及联合胁迫对紫萍 CAT (a)、SOD (b)、POD (c)和 APX (d)活性的影响

4. 讨论与结论

4.1. 讨论

相对生长速率(RGR)是反映植物生长快慢的一个重要指标。本实验中, 草甘膦降低了 RGR, 表明其对紫萍的生长具有显著的抑制作用, 且抑制程度随浓度的增加而增加。已有的研究显示较高浓度(25 mg/L)的草甘膦能够显著抑制浮萍(*Lemna minor*)和槐叶萍的生长(*Salvinia cucullate*), 而较低浓度(5 mg/L)则对其没有显著影响[12] [14]。而我们的研究显示, 即使较低浓度(5 mg/L)的草甘膦, 不仅能降低紫萍的相对生长速率, 还能显著抑制紫萍根的伸长和根的数目。草甘膦的主要作用机制是通过干扰植物的酶系统, 抑制色氨酸的合成, 这个氨基酸对植物生长和发育非常重要, 尤其是对光合作用、营养吸收和细胞分裂有

关键作用。另一方面,单一微塑料(PS)对紫萍相对生长速率的影响则与 PS 的大小密切相关,表现为微米(5 μm)塑料促进,而纳米(80 nm)抑制。由于相对生长速率是植物生理生化响应的综合表现,表明两种尺寸的 PS 颗粒对紫萍的影响存在较大的区别。在已有的微塑料对植物影响的研究中,尽管多数报道对植物生长有负面影响或无影响,但也有促进植物生长的报道。如 Lian 等[1]人报道 PS (0.01~1 mg/L)促进小麦的生长,并推测可能是由于 PS 能够诱导 α -淀粉酶的活性,促进其水解淀粉颗粒,从而产生更多的可溶性糖以利于小麦生长。而在水生高等植物的研究中,微塑料能够强力吸附在植物的表面已被大量证实。Dovidat 等[15]人的研究发现,当紫萍暴露在荧光标记的纳米塑料 120 小时后,共聚焦显微照片证实纳米颗粒能够吸附在紫萍叶状体下表皮和根的表面,根表面纳米塑料的吸附量显著大于叶状体下表皮,且 50 nm 颗粒在紫萍表面的吸附量较大,500 nm 的吸附量较小,但两种尺寸的纳米塑料均未影响紫萍的生长、根长和根的数目。Kalčíková 等[16]人的报道显示,PE 微塑料会导致浮萍(*Lemna minor*)的根长受到抑制,但并未影响浮萍的生长。Mateos-Cardenas 等[17]人也报道了 PE 微塑料吸附在浮萍(*Lemna minor*)表面,但短期对其生长无影响。Ceschin [18]报道了聚苯乙烯甲基丙烯酸甲酯微塑料对单脉浮萍(*Lemna minuta*)表面的吸附,并促进根的伸长,但仅有高浓度的微塑料会抑制其叶绿素和生长。50~190 nm 的 PS 纳米塑料可增加伊乐藻(*Elodea sp*)的地上部和根部生物量、RGR 和侧枝长度,抑制了狐尾藻(*Myriophyllum spicatum*)的茎长,但对生物量无影响[19]。本实验中,PS 对根生长的结果与 Dovidat 等人对紫萍的报道结果一致。最近的研究证实 1 μm 大小的 PS 微塑料能够进入紫萍和槐叶萍的表层,且较高浓度会对紫萍生物量产生抑制,但对槐叶萍的生长并无影响[20],其结果也与实验一致。

当草甘膦和微塑料联合胁迫时,无论是微米塑料还是纳米塑料,均显著抵消了草甘膦对 RGR 的抑制作用,而 PS 浓度较低时,纳米颗粒效果更佳,高浓度的 PS 处理时,微米塑料效果更明显。我们的结果与草甘膦和 PS 纳米塑料对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)中的研究结果一致[21],即微塑料的存在降低了草甘膦对生长的负面影响,两者表现为拮抗作用。然而,Yu 等[14]报道了 1 μm PS 与草甘膦的联合作用对水生植物槐叶萍的生长时发现,槐叶萍在受到草甘膦和 PS 的联合胁迫后,进一步降低了生长速率,两者表现为协同效应。本实验中微塑料拮抗草甘膦的可能原因在于:由于 PS 对草甘膦的吸附作用,导致培养液中草甘膦的有效浓度降低,从而减少了对紫萍叶状体的伤害。尺寸较小的纳米塑料比尺寸较大的微塑料具有更大的比表面积和更高的疏水性,在水体环境中更容易吸附其他污染物[14]。所以紫萍处于低浓度培养液中,纳米塑料能够吸附更多草甘膦,导致培养液中游离草甘膦含量降低,从而降低了其对紫萍生长的影响,进而低浓度的纳米 PS 能够更好地拮抗草甘膦的负面作用;但随着浓度的增加,两种 PS 的总表面积都显著增大,吸附草甘膦的总量均显著增加,草甘膦的活性减少,因微塑料大小带来的差异则迅速减少;一方面,微米塑料由于其颗粒较大,更容易聚集而降低吸附于叶状体下表面的总量,进一步减少草甘膦带来的伤害,故在 PS 高浓度时,微米塑料对草甘膦的拮抗效果更佳。另一方面,草甘膦与 PS 联合胁迫对紫萍根的影响呈现协同作用的趋势。由于根能够吸附远多于叶状体的塑料颗粒,且当草甘膦存在时,增加了 PS 在分散体系中的稳定性(即降低了聚集的量),从而导致更多吸附草甘膦的微塑料颗粒吸附并累积在紫萍的根表面,增加了草甘膦对根生长的抑制作用。因此,当两种污染物联合胁迫时,二者对根长的影响表现为协同作用,进一步抑制了根的生长,且纳米塑料在草甘膦处于低浓度(M50G5)时的效果更为显著,这是因为纳米塑料能够比微塑料更容易吸附到根表面,导致草甘膦在根表面累积造成更大的负面影响,而当 PS 浓度较高,草甘膦浓度较低的时候(M50G5),因微塑料的高聚集性和低吸附导致草甘膦对根系的影响显著低于纳米塑料。

高浓度的草甘膦处理对光合作用和叶绿素合成过程产生直接而显著的抑制作用,从而导致叶绿素 b 含量降低。紫萍叶绿素 b 含量受到单一低浓度纳米塑料的促进,但对总叶绿素的含量并无影响。我们的研究结果与 wang 等人的研究结果相似,Wang 等[14]报道了 100 mg/L PVC-MPs 促进了叶绿素 b 的含量,

单独的微塑料对植物叶绿素的影响尚无定论,抑制或促进[1]以及无影响[16][17][22]的结果均有报道。同时 Lian 等[1]的研究结果也表明了低浓度的 PS 能够显著促进叶绿素含量,这基于纳米颗粒的特殊性质(如表面反应活性、透明度),可提高光合作用的效率,并导致叶绿素合成过程中的增加;由于微米颗粒的尺寸较大,无法有效进入植物细胞或对光合作用产生明显影响。而当草甘膦与微塑料复合后,纳米塑料能较好抵消草甘膦带来的负面影响,纳米颗粒可能通过多种途径起到这种抵消作用,例如吸附草甘膦分子,从而减少其溶液中的有效浓度;此外,微塑料的吸附,可能增加微生物和藻类以及植物分泌物快速形成生物膜[23][24],因膜的阻隔作用从而减少了草甘膦对紫萍叶状体叶绿体的伤害。

丙二醛(MDA)是细胞膜脂质过氧化的产物,表现为植物在受胁迫下细胞的完整程度,MDA 含量越高表面细胞受损程度越大。单一的 PS 处理时,随着微塑料浓度增加,MDA 呈上升趋势,微米塑料效果更为显著,结果表明微米塑料对紫萍的伤害更大,这种影响可能由于机械损伤造成的,大的颗粒常常导致更多的机械伤害。当草甘膦与 PS 的联合胁迫时,MDA 的含量显著减少,说明胁迫程度反而降低,两种污染物表现为拮抗效应。类胡萝卜素、花青素和维生素 C,都是非酶促抗氧化物质,在清除氧化胁迫物质方面扮演着重要角色。轻度联合胁迫(M5G5)诱导了类胡萝卜素含量的升高以应对造成的氧化胁迫。单一的草甘膦随着浓度的增加呈现出显著抑制花青素的合成,而单一的 PS 胁迫时,诱导花青素的合成,且微米颗粒作用更加显著。当两种污染物联合胁迫时,花青素含量呈下降趋势,表明联合胁迫时花青素的含量受到进一步抑制,草甘膦和 PS 总体表现为拮抗作用。草甘膦和 PS 均诱导紫萍维生素 C 的合成,二者的交互作用显著,表现为联合胁迫时增加,且在纳米颗粒中更为显著,这与 Li 等[25]对黄瓜的研究基本一致,他的实验结果表明 100 nm 的 PS 显著促进维生素 C 的增加,而 500 nm 则抑制其含量。以上结果表明,无论是草甘膦还是微塑料,对紫萍均产生了氧化胁迫,从而诱导启动非酶促抗氧化物质的合成。

脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白质,作为植物细胞重要的渗透调节物质,在抗逆过程中扮演重要角色。单一草甘膦显著提高紫萍脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白的含量。总体而言,纳米塑料比微米塑料诱导了更多的脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白。实验表明纳米塑料形成了更大的胁迫,需要合成更多的渗透调节物质以应对潜在的细胞伤害。逆境条件下,植物脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量的增加对细胞膜系统和酶类的活性均能起到一定的保护作用。

当植物遭遇逆境胁迫时,通常诱导产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),过多的 ROS 会损伤膜系统和亚细胞组分。为了消除过多的 ROS,抗氧化酶系统诸如 SOD, CAT, POD, APX 等常被激活。SOD 是植物抗氧化系统的第一道防线,其作用是清除细胞内多余的超氧阴离子,并将其转化为过氧化氢。但过量的过氧化氢仍需 POD, CAT 和 APX 酶活来清除。单一的草甘膦提高了 SOD 和 APX, POD 活性,且随浓度的增加急剧上升,然对 CAT 的影响随着浓度的增加呈现先降低后增加的趋势。表明草甘膦浓度较低时,仅启动 SOD, POD, APX 等酶即可有效清除过多的活性氧,而草甘膦浓度较大时,氧化胁迫严重增加,四种抗氧化酶活性都不得不同时启动,且 CAT 和 POD 酶活性迅速增加以应对所受的胁迫。和其他非生物胁迫因子一样,微塑料被证实可以引发植物的氧化胁迫反应。微塑料和纳米塑料诱导抗氧化酶活性的升高在水稻[26]、玉米[27]、拟南芥[28]和番茄[29]中均被广泛报道。本实验中,当微塑料单独处理时,微米塑料对 SOD 活性也有促进作用,而纳米塑料却有降低作用,可能与微米塑料吸附在植物体表面,由于机械损伤从而引发 ROS 的产生有关[16]。单一的 PS 总体诱导 POD 和 APX 酶活性增加,且纳米颗粒效果更为显著,而 CAT 活性则有降低趋势。比较而言,单独的草甘膦主要诱导 POD 或 CAT 活性,而 PS 则诱导 SOD 和 APX 活性的增加。两种污染物联合胁迫时,纳米塑料与草甘膦表现出极显著的协同效应,而微米塑料与草甘膦呈拮抗效应。对 POD 而言,低浓度的 PS 降低了高浓度草甘膦对 POD 活性的诱导,而高浓度的微塑料显著促进了低浓度草甘膦对 POD 酶活性的诱导作用,且微米塑料效果更为显著。当草甘膦的浓度较高时,PS 和草甘膦两者表现为协同效应,APX 的活性急剧增加。近年来的研究

表明, 粒径小于 3.0 μm 的 PS 可被陆生高等植物根系吸收[19][30][31], 在水生植物的研究中, 最新研究也证实 1.0 μm 的微塑料能够进入漂浮植物紫萍和槐叶萍的内部组织[20]。本实验中, 相比较而言, 微塑料可能导致了更多的机械损伤, 而纳米塑料由于更强的吸附甚至吸收作用, 与细胞组分的相互作用导致了更多的细胞伤害[6]。

4.2. 结论

草甘膦显著抑制紫萍根的伸长, 根的数目, 破坏花青素的合成。紫萍主要通过显著诱导脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白等渗透调节物质的增加, 诱导 POD 和 CAT 酶活性的增加来应对氧化胁迫, 尽管 MDA 含量并未显著增加, 但叶绿素含量均有下降。表明在草甘膦胁迫下, 抗氧化酶活性和渗透物质的增加仍不足以消除氧化胁迫所带来的损伤, 综合表现为 RGR 急剧下降。

两种大小的 PS 对紫萍的根的长度和数目均无显著影响。PS 诱导了花青素和维生素 C 的显著增加, 比较而言, 纳米塑料诱导了更高的维生素 C, 而微米塑料则诱导了更多的花青素。PS 也显著增加了脯氨酸, 可溶性糖和可溶性蛋白的含量, 且纳米颗粒增加的程度更高。微米塑料诱导 SOD 和 POD 活性的增加, 而纳米塑料则主要诱导 POD 和 APX 活性的增加。PS 对叶绿体色素没有十分明显的抑制作用, 而纳米微塑料还促进了叶绿素 b 的增加。总体而言, 面对 PS 的胁迫, 紫萍主要通过提高酶促和非酶抗氧化系统的响应, 清除多余的自由基, 尽管 MDA 有一定的增加, 但 RGR 并未受到抑制, 而微米塑料对其生长表现出促进作用。

当草甘膦和 PS 联合胁迫时, 尽管紫萍根的生长受到进一步抑制, 但其通过维生素 C, 可溶性糖, 可溶性蛋白, SOD 和 APX 活性进一步提高, 大大降低了草甘膦带来的抑制作用, 综合表现为 RGR 在联合胁迫下较单一草甘膦处理的抑制作用大为缓解。由于更小的纳米塑料较微米塑料具有更大的比表面积, 因而能够吸附更多的其他污染物[6]。

当重度联合胁迫时(M50G20), 与较大尺寸的微米塑料相比, 纳米塑料与草甘膦的相互作用诱导产生了更高的维生素 C, 脯氨酸, 可溶性糖和可溶性蛋白含量, SOD, POD, CAT 和 APX 活性增加。表明纳米 PS 与草甘膦相互作用较微米 PS 造成了更多的细胞伤害, 从而导致较低的 RGR。

综上所述, 本研究深入探讨了微塑料和草甘膦的联合胁迫对植物生态系统的影响, 并发现微塑料的大小对其毒性行为和与草甘膦的相互作用有重要影响。未来, 应继续深入研究微塑料和草甘膦的联合污染对其他植物物种的影响, 探索其对水生生态系统多样性和功能的维持的影响机制。此外, 还需要关注微塑料和草甘膦的联合污染对水资源管理和污染治理的影响, 并寻求相应的解决方案和控制策略, 以保护生态环境和人类健康。

参考文献

- [1] Lian, J., Wu, J., Xiong, H., Zeb, A., Yang, T., Su, X., *et al.* (2020) Impact of Polystyrene Nanoplastics (PSNPs) on Seed Germination and Seedling Growth of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Hazardous Materials*, **385**, Article ID: 121620. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121620>
- [2] Li, Z., Li, R., Li, Q., Zhou, J. and Wang, G. (2020) Physiological Response of Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Leaves to Polystyrene Nanoplastics Pollution. *Chemosphere*, **255**, Article ID: 127041. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127041>
- [3] Senavirathna, M.D.H.J., Zhaozhi, L. and Fujino, T. (2022) Short-Duration Exposure of 3- μm Polystyrene Microplastics Affected Morphology and Physiology of Watermilfoil (sp. *roraima*). *Environmental Science and Pollution Research*, **29**, 34475-34485. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-18642-z>
- [4] Jiang, X., Chen, H., Liao, Y., Ye, Z., Li, M. and Klobučar, G. (2019) Ecotoxicity and Genotoxicity of Polystyrene Microplastics on Higher Plant *Vicia faba*. *Environmental Pollution*, **250**, 831-838. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.055>

- [5] Li, L., Luo, Y., Li, R., Zhou, Q., Peijnenburg, W.J.G.M., Yin, N., *et al.* (2020) Effective Uptake of Submicrometre Plastics by Crop Plants via a Crack-Entry Mode. *Nature Sustainability*, **3**, 929-937. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-0567-9>
- [6] Bhagat, J., Nishimura, N. and Shimada, Y. (2021) Toxicological Interactions of Microplastics/Nanoplastics and Environmental Contaminants: Current Knowledge and Future Perspectives. *Journal of Hazardous Materials*, **405**, Article ID: 123913. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123913>
- [7] Group T M I (2022) THERMOPLASTIC ELASTOMERS(TPE) Position Paper. *TPE Magazine International: Thermoplastic Elastomers*, **14**, 16.
- [8] Mahon, A.M., O'Connell, B., Healy, M.G., O' Connor, I., Officer, R., Nash, R., *et al.* (2017) Microplastics in Sewage Sludge: Effects of Treatment. In: Baztan, J., *et al.*, Eds., *Fate and Impact of Microplastics in Marine Ecosystems*, Elsevier, 4. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812271-6.00181-2>
- [9] Ahmad, M. and Bajahlan, A.S. (2007) Leaching of Styrene and Other Aromatic Compounds in Drinking Water from PS Bottles. *Journal of Environmental Sciences*, **19**, 421-426. [https://doi.org/10.1016/s1001-0742\(07\)60070-9](https://doi.org/10.1016/s1001-0742(07)60070-9)
- [10] Jampeetong, A. and Brix, H. (2009) Effects of NaCl Salinity on Growth, Morphology, Photosynthesis and Proline Accumulation of *Salvinia Natans*. *Aquatic Botany*, **91**, 181-186. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2009.05.003>
- [11] 柴露露. 阴离子表面活性剂 LAS 和多环芳烃萘对两种漂浮植物的效应探究[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 武汉大学, 2019.
- [12] 张治安, 陈展宇. 植物生理学实验技术[M]. 吉林: 吉林大学出版社, 2008.
- [13] Bradford, M.M. (1976) A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, **72**, 248-254.
- [14] Yu, H., Peng, J., Cao, X., Wang, Y., Zhang, Z., Xu, Y., *et al.* (2021) Effects of Microplastics and Glyphosate on Growth Rate, Morphological Plasticity, Photosynthesis, and Oxidative Stress in the Aquatic Species *Salvinia Cucullata*. *Environmental Pollution*, **279**, Article ID: 116900. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116900>
- [15] Dovidat, L.C., Brinkmann, B.W., Vijver, M.G. and Bosker, T. (2019) Plastic Particles Adsorb to the Roots of Freshwater Vascular Plant *Spirodela polyrhiza* but Do Not Impair Growth. *Limnology and Oceanography Letters*, **5**, 37-45. <https://doi.org/10.1002/lol2.10118>
- [16] Kalčíková, G., Žgajnar Gotvajn, A., Kladnik, A. and Jemec, A. (2017) Impact of Polyethylene Microbeads on the Floating Freshwater Plant Duckweed *Lemna minor*. *Environmental Pollution*, **230**, 1108-1115. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.050>
- [17] Mateos-Cárdenas, A., Scott, D.T., Seitmaganbetova, G., Frank, N.A.M., John, O. and Marcel, A.K. (2019) Polyethylene Microplastics Adhere to *Lemna minor* (L.), Yet Have No Effects on Plant Growth or Feeding by *Gammarus duebeni* (Lillj.). *Science of the Total Environment*, **689**, 413-421. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.359>
- [18] Ceschin, S., Mariani, F., Di Lernia, D., Venditti, I., Pelella, E. and Iannelli, M.A. (2023) Effects of Microplastic Contamination on the Aquatic Plant *Lemna minuta* (Least Duckweed). *Plants*, **12**, Article 207. <https://doi.org/10.3390/plants12010207>
- [19] van Weert, S., Redondo-Hasselerharm, P.E., Diepens, N.J. and Koelmans, A.A. (2019) Effects of Nanoplastics and Microplastics on the Growth of Sediment-Rooted Macrophytes. *Science of The Total Environment*, **654**, 1040-1047. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.183>
- [20] Song, U., Kim, J. and Rim, H. (2023) Assessing Phytotoxicity of Microplastics on Aquatic Plants Using Fluorescent Microplastics. *Environmental Science and Pollution Research*, **30**, 74186-74195. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-27621-x>
- [21] Zhang, Q., Qu, Q., Lu, T., Ke, M., Zhu, Y., Zhang, M., *et al.* (2018) The Combined Toxicity Effect of Nanoplastics and Glyphosate on *Microcystis Aeruginosa* Growth. *Environmental Pollution*, **243**, 1106-1112. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.073>
- [22] Rozman, U. and Kalčíková, G. (2022) The Response of Duckweed *Lemna Minor* to Microplastics and Its Potential Use as a Bioindicator of Microplastic Pollution. *Plants*, **11**, Article 2953. <https://doi.org/10.3390/plants11212953>
- [23] Nguyen, H.T., Lee, Y.K., Kwon, J. and Hur, J. (2023) Microplastic Biofilms in Water Treatment Systems: Fate and Risks of Pathogenic Bacteria, Antibiotic-Resistant Bacteria, and Antibiotic Resistance Genes. *Science of the Total Environment*, **892**, Article ID: 164523. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164523>
- [24] Maity, S., Biswas, C., Banerjee, S., Guchhait, R., Adhikari, M., Chatterjee, A., *et al.* (2021) Interaction of Plastic Particles with Heavy Metals and the Resulting Toxicological Impacts: A Review. *Environmental Science and Pollution Research*, **28**, 60291-60307. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16448-z>
- [25] Li, Z., Li, Q., Li, R., Zhou, J. and Wang, G. (2020) The Distribution and Impact of Polystyrene Nanoplastics on Cucumber Plants. *Environmental Science and Pollution Research*, **28**, 16042-16053.

-
- <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11702-2>
- [26] Zhou, C., Lu, C., Mai, L., Bao, L., Liu, L. and Zeng, E.Y. (2021) Response of Rice (*Oryza sativa* L.) Roots to Nanoplastic Treatment at Seedling Stage. *Journal of Hazardous Materials*, **401**, Article ID: 123412. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123412>
- [27] Zhang, Y., Yang, X., Luo, Z., Lai, J., Li, C. and Luo, X. (2022) Effects of Polystyrene Nanoplastics (PSNPs) on the Physiology and Molecular Metabolism of Corn (*Zea mays* L.) Seedlings. *Science of the Total Environment*, **806**, Article ID: 150895. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150895>
- [28] Ma, C., Liu, H., Guo, H., Musante, C., Coskun, S.H., Nelson, B.C., *et al.* (2016) Defense Mechanisms and Nutrient Displacement in *Arabidopsis thaliana* Upon Exposure to CeO₂ and In₂O₃ Nanoparticles. *Environmental Science: Nano*, **3**, 1369-1379. <https://doi.org/10.1039/c6en00189k>
- [29] Tewari, S., Tandon, P.K. and Rai, V. (2013) Assessment of Growth and Metabolic Effects of Chemical Pesticide (Quinalphos) in Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Plants. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry*, **26**, 97-101.
- [30] Mato, Y., Isobe, T., Takada, H., Kanehiro, H., Ohtake, C. and Kaminuma, T. (2000) Plastic Resin Pellets as a Transport Medium for Toxic Chemicals in the Marine Environment. *Environmental Science & Technology*, **35**, 318-324. <https://doi.org/10.1021/es0010498>
- [31] Drincovich, M.F., Voll, L.M. and Maurino, V.G. (2016) Editorial: On the Diversity of Roles of Organic Acids. *Frontiers in Plant Science*, **7**, Article 1592. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01592>