

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20200925004

靳非, 田淼, 穆景利, 等. 聚苯乙烯微塑料长期暴露对海水青鳉(*Oryzias melastigma*)亲代生长、繁殖及子代发育的影响[J]. 生态毒理学报, 2021, 16(4): 216-223

Jin F, Tian M, Mu J L, et al. Effects of polystyrene microplastics on growth and reproduction of parental generation and development of filial generation of marine medaka (*Oryzias melastigma*) after a long-term exposure [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2021, 16(4): 216-223 (in Chinese)

聚苯乙烯微塑料长期暴露对海水青鳉 (*Oryzias melastigma*) 亲代生长、繁殖及子代发育的影响

靳非¹, 田淼², 穆景利^{3, #}, 王莹¹, 丛艺¹, 王菊英^{1, *}

1. 国家海洋环境监测中心, 大连 116023

2. 大连海洋大学, 大连 116023

3. 闽江学院, 福州 350108

收稿日期: 2020-09-25

录用日期: 2020-12-08

摘要: 微塑料污染是近年来受到国际社会广泛关注的海洋环境问题之一, 由微塑料造成的生态和人类健康风险不容小觑, 但微塑料对鱼类的长期危害目前尚无定论。为评估微塑料颗粒对海洋鱼类的长期影响, 选取塑料生产和环境中常见的聚苯乙烯(polystyrene, PS)为研究对象, 对海水青鳉(*Oryzias melastigma*) 60 dph (days post hatching, dph) 幼鱼进行了为期 50 d 的长期暴露, 系统研究 PS 暴露对海水青鳉亲代的生长、繁殖和子代胚胎发育等的影响。结果显示, 在粒径为 10 μm 、浓度为 1×10^4 particles $\cdot \text{L}^{-1}$ 和 1×10^5 particles $\cdot \text{L}^{-1}$ 暴露条件下, PS 处理组亲代体长和体质量的变化与对照组相比无显著差异, PS 暴露未显著影响亲代性成熟进程和受精过程; PS 暴露未显著影响子代胚胎心率和孵化时间, 但能显著降低子代孵化率, 造成胚胎发育畸形。上述结果表明, PS 长期暴露对亲代生长和繁殖未产生明显影响, 但对子代的胚胎发育具有不利影响, 研究结果为科学评估海洋微塑料污染的生态风险提供了重要参考。

关键词: 聚苯乙烯; 海水青鳉; 长期效应; 生长; 繁殖; 胚胎发育

文章编号: 1673-5897(2021)4-216-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Effects of Polystyrene Microplastics on Growth and Reproduction of Parental Generation and Development of Filial Generation of Marine Medaka (*Oryzias melastigma*) after a Long-term Exposure

Jin Fei¹, Tian Miao², Mu Jingli^{3, #}, Wang Ying¹, Cong Yi¹, Wang Juying^{1, *}

1. National Marine Environment Monitoring Center, Dalian 116023, China

2. Dalian Ocean University, Dalian 116023, China

3. Minjiang University, Fuzhou 350108, China

Received 25 September 2020

accepted 8 December 2020

Abstract: Microplastic pollution is one of the marine environmental issues that have received widely concerns by the international society in recent years. The risks of ecology and human health caused by microplastics should not

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(2016YFC1402201); 国家自然科学基金面上项目(41776118)

第一作者: 靳非(1984—), 男, 硕士, 工程师, 研究方向为鱼类生态毒理学, E-mail: fjin@nmemc.org.cn

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: jywang@nmemc.org.cn

共同通讯作者 (Co-corresponding author), E-mail: jinglimu@126.com

be underestimated. However, the long-term impacts of microplastics on fish are still inconclusive. This study selected polystyrene (PS, 10 μm) microplastics as reference toxicant which were commonly found in plastic productions and environments. An exposure duration of 50 d of PS microplastics was conducted for the 60 dph (days post hatching) juveniles of marine medaka (*Oryzias melastigma*) to evaluate the long-term effects of microplastics on marine fish. The effects of PS exposure on the growth and reproduction of parental generation and the embryonic development of offspring were systematically explored. The results showed that under the exposure concentrations of 1×10^4 particles $\cdot \text{L}^{-1}$ and 1×10^5 particles $\cdot \text{L}^{-1}$ of 10 μm PS, the body length and body mass of parental fishes in exposure groups were not significantly different from those in the control group. In addition, parental maturation and fertilization process were not significantly affected by PS exposure either. Although polystyrene exposure did not significantly affect the heart rate and hatching time of offspring embryos, it could significantly reduce the hatching rate of offspring and cause deformity of embryos. These results indicated that long-term exposure to polystyrene microplastics had no significant influence on parental growth and reproduction, but affected embryo development instead. This study provided an important reference for scientific evaluation of the ecological risks of marine microplastic pollution.

Keywords: polystyrene; *Oryzias melastigma*; chronic effects; growth; reproduction; embryonic development

微塑料污染是近年来受到国际社会广泛关注的海洋环境问题之一。过去几十年,全球塑料产量急剧增长,2018年已达3.59亿 $\text{t}^{[1]}$ 。据估计,到2050年时,塑料产量将达到330亿 $\text{t}^{[2]}$ 。高密度聚乙烯(high density polyethylene, HDPE)、低密度聚乙烯(low density polyethylene, LDPE)、聚氯乙烯(polyvinyl chloride, PVC)、聚苯乙烯(polystyrene, PS)、聚丙烯(polypropylene, PP)和聚对苯二甲酸乙二醇酯(polyethylene glycol terephthalate, PET)是最常见的塑料,它们加起来约占全球塑料总产量的90% $^{[3]}$ 。塑料生产和使用的持续增长导致了越来越多的塑料垃圾被释放到环境中。塑料很难降解,但经过长时间机械、化学和生物作用,它们破碎成各种大小和形状的碎片 $^{[4]}$ 。据估计,每年大约产生245 t微塑料颗粒,这些微塑料颗粒最终进入全球水域 $^{[5]}$ 。在海洋环境中,微塑料广泛分布在近海、大洋和极地的表层水、不同深度的水柱、海底沉积物,甚至极地冰核中 $^{[6]}$ 。多项研究表明,微塑料能被各种水生生物摄入 $^{[2,7]}$,分布于不同组织中 $^{[8-9]}$,产生多种毒性效应 $^{[10-16]}$,并能通过食物链进行传递 $^{[17-18]}$ 。因此,由微塑料引起的生态效应和人类健康风险不容小觑。

微塑料在生物体内的富集与分布规律主要取决于粒径,当粒径小到一定程度时微塑料可从消化系统进入循环系统。如20 μm 的微塑料颗粒可富集在贻贝(*Mytilus edulis*)的鳃表面和消化道内 $^{[9]}$,而10 μm 的微塑料则足以进入贻贝的循环系统 $^{[19]}$;5 μm 和20 μm 的微塑料可在斑马鱼鳃和肠道中富集,5

μm 可进入斑马鱼(*Danio rerio*)肝脏,而20 μm 则不能进入 $^{[20]}$;10 μm 的微塑料可在海水青鳉(*Oryzias melastigma*)的腮、肠道中富集并进入肝脏 $^{[21]}$ 。目前,针对微塑料的毒性研究,多为微塑料对滤食性动物所造成的物理性损伤,集中于短期效应。但从科学评估其生态影响的角度看,低含量、长时间的慢性结果才是评估其危害性的关键内容,而现有关于微塑料是否影响个体的生长、发育和繁殖等还存在很大争议 $^{[22]}$,急需相关数据的跟进与证实。我们前期研究发现,海水青鳉仔鱼(4 dph)可摄入微塑料颗粒(10 μm),在24 h时体内含量达到高值,随后呈缓慢下降趋势,且在96 h时死亡率上升 $^{[23]}$ 。但这一过程是否会产生长期影响,是否具有生殖毒性和对子代产生影响有待进一步证实。

海水青鳉是一种与淡水模式生物日本青鳉(*Oryzias latipes*)亲缘关系较近的海水种,因其具有个体小、世代周期短、雌雄易分辨、能够终年繁殖、胚胎及仔鱼透明易观察、易于实验室大规模培养、温度和盐度适应范围广、对污染物反应敏感等特点,近年来被广泛应用于生态毒理学和环境研究 $^{[24-32]}$ 。过去十几年,通过对海水青鳉转录组和基因组进行大量研究,使其成为亚洲地区生态毒理学和环境研究的一种理想的海洋模式生物 $^{[33]}$ 。本研究以海水青鳉为受试生物,选取10 μm PS颗粒为研究对象,通过分析长期暴露后的海水青鳉体长和体质量变化、产卵量和受精率、胚胎发育状况等,评估2种浓度下PS对海水青鳉亲代生长、繁殖和子代发育的影响。相关

研究结果可为评估微塑料对海洋鱼类的毒性效应和生态风险提供重要参考。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 实验材料

实验用盐为天然人工海盐(珊瑚礁级),购自中盐工程技术研究院有限公司。鱼类养殖和实验用水的盐度均为 28 ± 1 。鱼类养殖和实验期间投喂的丰年虫购自天津海友佳音生物科技股份有限公司,投喂的补充饲料为日清丸红 C1 饲料,购自日本日清丸红饲料株式会社。PS 微塑料颗粒(4210A,直径 $10 \mu\text{m} \pm 0.08 \mu\text{m}$)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司,PS 颗粒不含添加剂,悬浮于含微量表面活性剂($<0.5\%$, V:V)的水中。实验储备液浓度为 $4 \times 10^8 \text{ particles} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.2 实验生物

海水青鳉培养于流水循环式养殖系统(美国 Aquatic Habitats™ 公司, Stand-Alone System AH2030),培养条件为温度 $28^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 、盐度 28 ± 1 、pH 8.0 ± 0.1 、光暗比 14 h : 10 h(光照:黑暗)。幼鱼、成鱼每日用卤虫无节幼体投喂 3 次,仔鱼、稚鱼每日用日清丸红 C1 饲料投喂 2 次。成鱼阶段每日收集鱼卵,用清洁人工海水冲洗干净后,放入 3 L 鱼缸,于养殖系统内流水孵化。随机挑选 60 dph(days post hatching)的健壮幼鱼(体长 $2.11 \text{ cm} \pm 0.13 \text{ cm}$ 、体质量 $0.07 \text{ g} \pm 0.02 \text{ g}$)进行暴露实验。

1.3 慢性毒性实验暴露设计

参考课题组前期研究结果^[23],PS 颗粒的加标浓度分别设置为 $1 \times 10^4 \text{ particles} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1 \times 10^5 \text{ particles} \cdot \text{L}^{-1}$,根据 PS 颗粒密度, $1 \times 10^4 \text{ particles} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1 \times 10^5 \text{ particles} \cdot \text{L}^{-1}$ 对应的质量浓度分别为 $5.5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $55 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。同时设置对照组,对照组和每个处理组分别设置 3 个平行。暴露容器为 1 L 玻璃烧杯,每个烧杯含 500 mL 经 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤的人工海水,放入 10 尾随机挑选的健壮幼鱼(雌雄比 6:4),加入对应体积提前用超声处理并分散均匀的 PS 颗粒储备液。烧杯置于摇床 $80 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 震荡,以使 PS 颗粒尽可能均匀分散。暴露周期为 50 d,每 24 h 更换实验溶液 1 次,室温 25°C ,光暗比 14 h : 10 h(光照:黑暗)。每日早、晚用滴管各投喂 2 滴卤虫无节幼体。

1.4 体长和体质量

暴露开始前和暴露结束后,分别用直尺测量亲鱼吻端至尾鳍基部的长度,用天平 (Sartorius BSA3202S,瑞士)称量亲鱼体质量。计算亲代体长

和体质量增量,以评价亲代生长情况。

1.5 产卵量和受精率

对照组和处理组的幼鱼达到性成熟并开始产卵后,记录产卵时间及每日产卵量。将当日所产鱼卵于荧光倒置显微镜(Leica DMI4000B,德国)下观察受精情况。受精卵外观透明,由绒毛膜包裹,卵与绒毛膜间形成均匀间隙。受精卵于清洁人工海水中孵化。连续收集 7 d 鱼卵,统计 7 d 累计产卵量,计算受精率。

1.6 子代胚胎心率

胚胎孵化至第 11 天,荧光倒置显微镜下观察,详细记录全部存活胚胎 30 s 内的心跳次数,心跳次数乘以 2 即为胚胎心率。

1.7 子代胚胎畸形评价和畸形率

胚胎畸形评价与胚胎心率测定同步进行。荧光倒置显微镜下将胚胎调整至统一体位,观察胚胎身体右侧,对胚胎心脏、围心囊和卵黄囊发育情况进行分析,评价胚胎畸形情况。所有胚胎观察完毕后统计胚胎畸形数量,计算畸形率。

1.8 子代胚胎孵化时间和孵化率

当有仔鱼孵化出膜后,记录从受精卵至仔鱼出膜所经历的孵化时间。胚胎孵化 21 d 后,孵化结束,统计孵化出膜的仔鱼数量,计算胚胎孵化率。

1.9 数据处理

实验数据用 IBM SPSS Statistics 19.0 软件进行处理。PS 处理组与对照组间的显著性差异检验采用单因素方差分析(ANVOA),组间比较用 LSD 检验($P < 0.05$)。

2 结果 (Results)

2.1 对海水青鳉亲代生长的影响

暴露 50 d 后,海水青鳉体长和体质量增量如表 1 所示,不同浓度 PS 处理组在暴露持续期间体长和体质量增量与对照组相比无显著差异。

2.2 对海水青鳉亲代繁殖的影响

暴露 11 d 后,对照组和各浓度 PS 处理组海水青鳉开始同步产卵。海水青鳉性成熟后 7 d 累计产卵量和受精率如表 2 所示,PS 处理组与对照组相比产卵量有较大幅度的增加,并且暴露浓度越高产卵量越大,但三者之间无显著差异,对照组和各浓度 PS 处理组亲鱼所产鱼卵的受精率均为 100%。

2.3 对海水青鳉子代胚胎发育的影响

子代胚胎发育至第 11 天的心率和胚胎平均孵化时间如图 1 所示,各浓度 PS 处理组胚胎的心率和

平均孵化时间与对照组相比无显著差异。与对照组相比,PS 暴露显著降低了胚胎孵化率,且暴露浓度越高胚胎孵化率越低(图 2)。随暴露浓度的增加,胚胎畸形率略有升高(表 3),但与对照组相比无显著差异,畸形特征包括心脏拉长和围心囊水肿,典型畸形特征如图 3 所示。

3 讨论 (Discussion)

微塑料已成为国际社会广泛关注的环境热点问题之一。近年来关于微塑料研究的报道逐年增多,但主要集中于微塑料在不同地区的各种环境介质中的分布、丰度和特征以及不同种类的水生生物对微塑料的摄入和积累等方面,而关于微塑料对海洋生物尤其是鱼类毒性效应的研究还相对较少。相关数据的缺乏导致很难有效评估海洋微塑料污染对海洋鱼类个体、种群甚至整个生态系统产生的环境风险。

本研究发现,经 50 d 暴露后,PS 处理组体长和体质量的增量与对照组相比均无显著差异,表明 PS 并未对海水青鳉的生长产生影响,这与先前的部分研究结论相似。Sun 等^[34]研究发现,15 ~ 80 μm 粒径的 HDPE 对黄海马 (*Hippocampus kuda*) 暴露 45 d 后,黄海马的体长、体质量、肥满度和比生长速率与对照相比均无显著差异; Jakubowska 等^[35]将海鲢 (*Salmo trutta*) 幼鱼暴露于环境相关浓度(沉积物干质量 0.1%) 的粒径为 3 000 μm 的 PS、PET 和 PE 3 种微塑料中 113 d,发现暴露均未对幼鱼的生长速率产生不利影响; Mazurais 等^[36]使用 10 ~ 45 μm 粒径的 PE 微珠对欧洲鲈鱼 (*Dicentrarchus labrax*) 幼鱼进行长达 36 d 的食物相暴露后,发现含 PE 浓度为 10 000 $\text{particles}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 100 000 $\text{particles}\cdot\text{g}^{-1}$ 的惰性饲料并未对幼鱼的生长产生影响。然而,另一些研究则得出了不同的结论。Li 等^[37]同样以海水青鳉为受

表 1 海水青鳉亲代体长和体质量增量 ($n=3$)

Table 1 Body length and body mass increment of marine medaka parental fish ($n=3$)

	对照 Control	1×10^4 particles $\cdot\text{L}^{-1}$	1×10^5 particles $\cdot\text{L}^{-1}$
体长增量/cm Body length increment/cm	0.150 ± 0.010	0.183 ± 0.057	0.177 ± 0.074
体质量增量/g Body mass increment/g	0.032 ± 0.007	0.027 ± 0.017	0.040 ± 0.003

表 2 海水青鳉亲代产卵量和受精率 ($n=3$)

Table 2 Spawning amount and fertilization rate of marine medaka parental fish ($n=3$)

	对照 Control	1×10^4 particles $\cdot\text{L}^{-1}$	1×10^5 particles $\cdot\text{L}^{-1}$
7 d 累计产卵量 7 d cumulative spawning amount	24.00 ± 1.41	52.67 ± 26.16	65.33 ± 24.38
受精率/% Fertilization rate/%	100	100	100

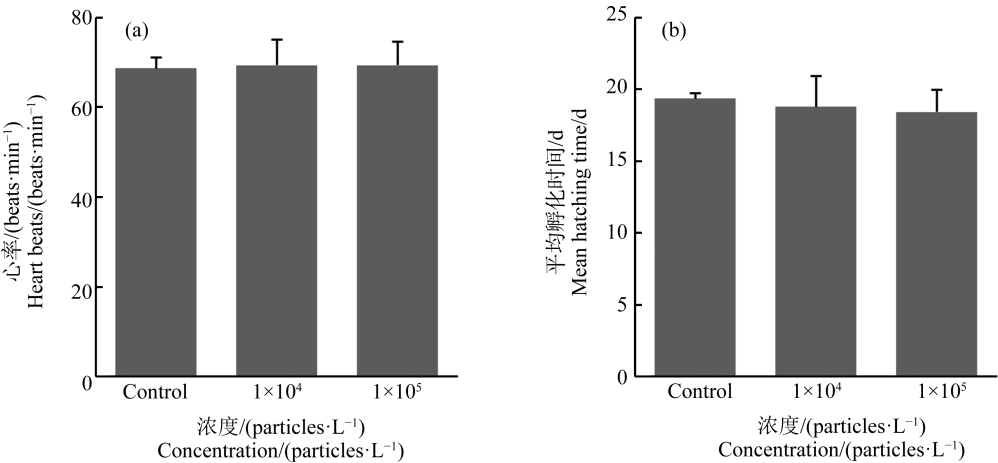


图 1 海水青鳉子代 11 d 胚胎心率 (a) 和平均孵化时间 (b)

Fig. 1 Heart rate after 11 d exposure (a) and mean hatching time (b) of marine medaka filial embryos

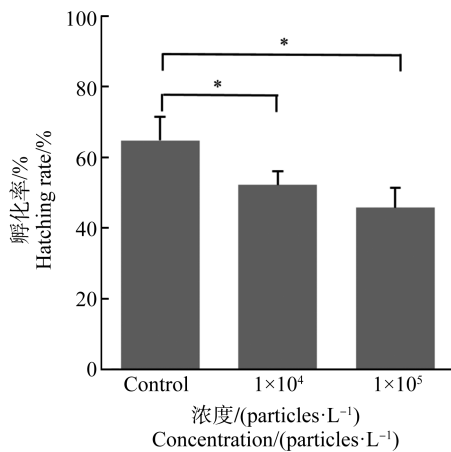


图2 海水青鳉子代胚胎孵化率

注: * 表示 $P<0.05$, 与对照组相比。

Fig. 2 Hatching rate of marine medaka filial embryos

Note: * represents $P<0.05$, compared with the control.

表3 海水青鳉子代胚胎畸形率 ($n=3$)

Table 3 Deformity rate of marine medaka filial embryos ($n=3$)

	对照 Control	1×10^4 particles $\cdot$ L $^{-1}$	1×10^5 particles $\cdot$ L $^{-1}$
畸形率/% Deformity rate/%	0	2.05 ± 1.83	3.35 ± 4.27

试生物,研究了 $10 \mu\text{m}$ PS 对海水青鳉早期发育阶段的影响,从受精卵开始经 28 d 暴露后, $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 PS 抑制了仔鱼的生长。这可能与受试生物所处的生活阶段有关,本研究采取孵化后 60 d 的幼鱼为受试生物,而 Li 等^[37]采用鱼类更为敏感的早期发育阶段。此外, Li 等^[37]的研究暴露浓度也高于本研究,这可能是得出与本文不同结论的主

要原因。Naidoo 和 Glassom^[38]研究发现,使用由 9 份 HDPE 薄膜、5 份 PVC 碎片、1 份 HDPE 球和 1 份 PS 混合而成的 $250 \sim 1\,000 \mu\text{m}$ 粒径的微塑料,对玻璃鱼(*Ambassis dussumieri*)幼鱼进行长达 95 d 的暴露后,微塑料处理组体长的增长比对照组要少,体质量也比对照组轻。在一项关于微塑料对许氏平鲈(*Sebastes schlegelii*)行为及代谢影响的研究中, Yin 等^[39]分别用 $190 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 粒径为 $15 \mu\text{m}$ 的 PS 微塑料和粒径为 $0.5 \mu\text{m}$ 的 PS 纳米塑料对许氏平鲈进行了 14 d 的暴露和 7 d 的恢复,鱼的体质量增长率显著降低,并且微塑料对生长的抑制强于纳米塑料。上述研究在所采用的微塑料材质、暴露浓度、粒径、暴露时间、鱼类物种和所处生命阶段等方面存在差异,导致鱼类对微塑料的摄入、积累和排泄能力不同,可能是相关研究产生不同研究结果的原因。

在繁殖方面,以产卵量和受精率为考察目标,评估微塑料暴露对海水青鳉亲代繁殖的影响。海水青鳉从受精卵至性成熟约需 90 d,从受精卵至仔鱼孵化出膜平均约需 14 d。因此,暴露开始时,海水青鳉尚处于幼鱼阶段,仍未达到性成熟。经一段时间的暴露,对照组和 PS 处理组开始同步产卵,表明各组海水青鳉雌鱼同步达到性成熟,PS 暴露并未对海水青鳉雌鱼的性成熟进程产生影响。对照组和 PS 处理组鱼卵的受精率均为 100%,表明 PS 暴露并未对受精过程产生影响。目前已有 PS 对日本青鳉和海水青鳉繁殖影响的文献报道。Assas 等^[40]报道了日本青鳉(*Oryzias latipes*)在浓度为 $10^7 \text{ particles} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $2 \mu\text{m}$ PS 中暴露 21 d 后,产卵量未受到显著影响。该研究比较了日本青鳉和另一种海水鱼类爪哇青鳉(*Oryzias javanicus*)对 PS 的生物富集因子,爪哇青鳉

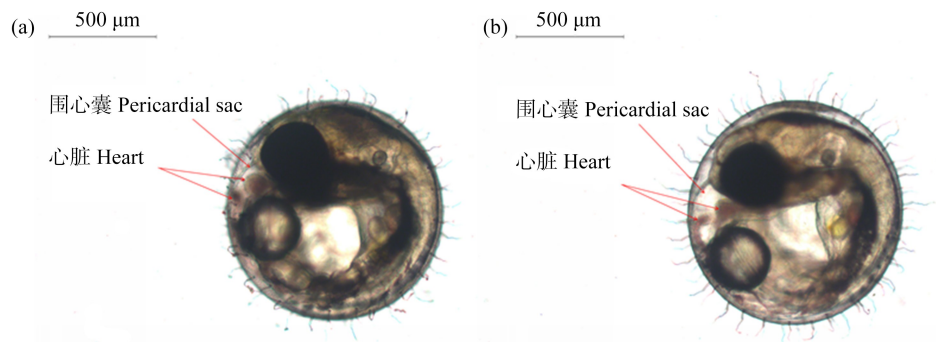


图3 海水青鳉子代胚胎典型畸形特征

注: (a) 正常胚胎; (b) 畸形胚胎(心脏拉长、围心囊水肿)。

Fig. 3 Typical deformity characteristics of marine medaka filial embryo

Note: (a) normal embryo; (b) deformity embryo (stretched heart and pericardial sac edema).

的生物富集因子约为 4×10^2 , 而日本青鳉的生物富集因子仅约为 1×10^2 , 表明爪哇青鳉对 PS 颗粒的富集能力更强。该作者认为造成这种差异的原因可能是淡水鱼类和海水鱼类不同的渗透平衡, 爪哇青鳉因渗透压高需要饮用更多的水, 而日本青鳉则仅需饮用少量水来维持液体量, 导致爪哇青鳉通过大量饮水摄入更多 PS。因此, 尽管未就 PS 对爪哇青鳉繁殖的影响开展相关研究, 但上述结果似乎表明 PS 对爪哇青鳉产生繁殖风险的可能性比日本青鳉更高。海水青鳉作为海水鱼类, 渗透平衡的调节方式更近似于爪哇青鳉, 因此所面临的繁殖风险可能也高于日本青鳉。在另一项研究中, Wang 等^[21]报道了海水青鳉暴露于 $10 \mu\text{m}$ PS 颗粒 60 d 后, 2、20 和 $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度均会延迟性腺的成熟, 降低雌性的繁殖力; 基因转录分析结果显示, PS 暴露对雌性下丘脑-垂体-性腺(HPG)轴有显著的负调控作用, 而与雌性类固醇生成通路相关基因的转录也被下调, 导致雌性血浆中 17β -雌二醇(E2)和睾酮(T)的浓度下降。该研究的结论与本文不一致, 对繁殖的考察阶段不同可能是造成结论不一致的重要原因。该研究考察的是 PS 暴露成鱼 60 d 后的繁殖情况, 此时海水青鳉已不处于繁殖初期, 而本文研究的则是 PS 对海水青鳉繁殖初期的影响。PS 暴露未对繁殖初期产生负面影响的原因可能有 2 点: (1) 暴露开始至亲代产卵所经历的暴露时间较短, PS 尚未对繁殖产生不利影响; (2) 在不同的繁殖阶段, PS 对 HPG 轴的影响可能不同。此外, 本文中微塑料处理组 7 d 累计产卵量数据离散程度较大, 这是由于不同平行间产卵量差异较大造成的, 可能与微塑料的性质有关。微塑料与传统污染物不同, 根据其自身密度的差异, 或沉入水底, 或漂浮于水面^[5], 其在暴露水体中的分布是不均匀的, 这种不均匀的暴露可能会导致受试生物对污染物响应的个体差异被放大。

在子代胚胎发育方面, 以胚胎心率、胚胎平均孵化时间、胚胎畸形率和胚胎孵化率为效应指标, 评估海水青鳉亲代暴露于 PS 中对子代发育的影响。结果显示, 亲代的 PS 暴露不会对子代胚胎心率和平均孵化时间产生影响, 但会显著降低子代胚胎孵化率, 并造成少量胚胎畸形, 主要表现为心脏拉长和围心囊水肿。上述结果表明, 亲代的 PS 暴露不会影响子代胚胎心脏功能和胚胎发育的进程, 但会影响胚胎发育的质量。目前, 多数关于微塑料对海洋鱼类胚胎发育影响的报道, 采用的是微塑料直接对胚

胎进行暴露的方式。Jakubowska 等^[35]用 $3\ 000 \mu\text{m}$ 粒径的 PS、PET 和 PE 3 种微塑料对海鳉胚胎进行直接暴露, 发现并未影响胚胎孵化率和孵化时间。Li 等^[37]使用 $10 \mu\text{m}$ PS 对海水青鳉受精卵进行直接暴露, 发现 $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 高浓度 PS 降低了胚胎孵化能力并延迟了孵化时间。Chen 等^[41]研究发现, 水相暴露于浓度为 $1 \times 10^6 \text{ particles} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 $6 \mu\text{m}$ PS 显著延迟了海水青鳉的胚胎孵化时间, 改变了心率, 并降低了胚胎孵化率。上述结果只能反映微塑料对鱼类早期发育阶段的直接影响, 而不能反映微塑料对亲代暴露而对子代产生的间接影响。Wang 等^[21]则采用了与本文类似的策略, 考察了亲代暴露对子代发育的间接影响, 不同的是暴露时亲代所处的繁殖阶段与本文不一致。该研究同样发现 PS 降低了胚胎孵化率, 并认为亲代性腺抗氧化酶受 PS 显著影响而导致的胚胎抗氧化系统受损可能是微塑料产生代际影响的主要原因。心脏是鱼类胚胎器官发生过程中最先产生功能的器官^[32], 通过血液循环为其他身体部位供氧, 对化学物质敏感^[42]。本研究发现 PS 对亲代暴露会导致部分子代胚胎心脏和围心囊发育异常, 这一现象在相关研究中尚未见报道, 具体原因有待进一步探究。

总体上, 现有实验室暴露实验已不断证实微塑料对水生生物的危害受其粒径、暴露浓度和材质等因素影响^[43], 但目前有关微塑料的生态毒理学研究仍面临着多项挑战, 主要体现在: (1) 尚未形成相对标准的毒性暴露方法, 不同实验间暴露浓度的单位不统一 ($\text{particles} \cdot \text{L}^{-1}$ 或 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 导致毒性结果可比性不强; (2) 实验暴露浓度远高于环境中的实际浓度, 且生态风险评估中所涉及的长期效应阈值(如 NOEC、LOEC)等信息非常欠缺; (3) 微塑料作为一种特殊的污染物, 与传统的化学物质存在本质区别, 且其作为一种介质载体如何影响环境中污染物的有效性及毒性尚无定论。在真实环境中 PS 微塑料可能来源于大块 PS 塑料垃圾的破碎或人为添加至工业、医药以及生活用品中的 PS 颗粒。本研究选取 $1 \times 10^4 \text{ particles} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1 \times 10^5 \text{ particles} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $10 \mu\text{m}$ PS 颗粒对海水青鳉开展了长期效应研究, 结果显示, 高浓度、小粒径的 PS 颗粒并未影响海水青鳉亲代的生长、繁殖和子代胚胎的发育进程, 但会对青鳉子代胚胎发育的质量产生不利影响, 其原因还有待进一步揭示。深入评估微塑料在环境污染物毒性过程中所扮演的角色是亟待关注的重要方向, 将有助于科

学评估微塑料的生态危害。

通讯作者简介:王菊英(1967—),女,博士,研究员,主要研究方向为海洋环境中污染物的环境效应及环境质量基准、海洋环境质量监测与评价方法学。

共同通讯作者简介:穆景利(1979—),男,博士,研究员,主要研究方向为污染物的海洋环境效应与风险评估、海洋生态毒理学和海洋环境质量基准。

参考文献 (References):

- [1] Plastics Europe. Plastics—The facts 2019: An analysis of European plastic production, demand and waste data [R]. Brussels: Plastics Europe, 2019
- [2] Rochman C M, Browne M A, Halpern B S, et al. Policy: Classify plastic waste as hazardous [J]. *Nature*, 2013, 494 (7436): 169-171
- [3] Andrady A L, Neal M A. Applications and societal benefits of plastics [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2009, 364(1526): 1977-1984
- [4] Barnes D K, Galgani F, Thompson R C, et al. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2009, 364 (1526): 1985-1998
- [5] Auta H S, Emenike C U, Fauziah S H. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions [J]. *Environment International*, 2017, 102: 165-176
- [6] Wang W F, Ge J, Yu X Y. Bioavailability and toxicity of microplastics to fish species: A review [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 189: 109913
- [7] Cole M, Lindeque P, Fileman E, et al. Microplastic ingestion by zooplankton [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(12): 6646-6655
- [8] Sekirov I, Russell S L, Antunes L C M, et al. Gut microbiota in health and disease [J]. *Physiological Reviews*, 2010, 90(3): 859-904
- [9] von Moos N, Burkhardt-Holm P, Köhler A. Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel *Mytilus edulis* L. after an experimental exposure [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(20): 11327-11335
- [10] Barboza L G A, Vieira L R, Branco V, et al. Microplastics cause neurotoxicity, oxidative damage and energy-related changes and interact with the bioaccumulation of mercury in the European seabass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2018, 195: 49-57
- [11] Bour A, Haarr A, Keiter S, et al. Environmentally relevant microplastic exposure affects sediment-dwelling bivalves [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 236: 652-660
- [12] LeMoine C M R, Kelleher B M, Lagarde R, et al. Transcriptional effects of polyethylene microplastics ingestion in developing zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 243(Pt A): 591-600
- [13] Martins A, Guilhermino L. Transgenerational effects and recovery of microplastics exposure in model populations of the freshwater cladoceran *Daphnia magna* Straus [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 631-632: 421-428
- [14] Rochman C M, Kurobe T, Flores I, et al. Early warning signs of endocrine disruption in adult fish from the ingestion of polyethylene with and without sorbed chemical pollutants from the marine environment [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 493: 656-661
- [15] Sleight V A, Bakir A, Thompson R C, et al. Assessment of microplastic-sorbed contaminant bioavailability through analysis of biomarker gene expression in larval zebrafish [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 116(1-2): 291-297
- [16] Tang J, Ni X Z, Zhou Z, et al. Acute microplastic exposure raises stress response and suppresses detoxification and immune capacities in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis* [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 243 (Pt A): 66-74
- [17] Farrell P, Nelson K. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.) [J]. *Environmental Pollution*, 2013, 177: 1-3
- [18] Setälä O, Fleming-Lehtinen V, Lehtiniemi M. Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web [J]. *Environmental Pollution*, 2014, 185: 77-83
- [19] Browne M A, Dissanayake A, Galloway T S, et al. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(13): 5026-5031
- [20] Lu Y F, Zhang Y, Deng Y F, et al. Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(7): 4054-4060
- [21] Wang J, Li Y J, Lu L, et al. Polystyrene microplastics cause tissue damages, sex-specific reproductive disruption and transgenerational effects in marine medaka (*Oryzias melastigma*) [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 254(Pt B): 113024
- [22] Franzellitti S, Canesi L, Auguste M, et al. Microplastic

- exposure and effects in aquatic organisms: A physiological perspective [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2019, 68: 37-51
- [23] Cong Y, Jin F, Tian M, et al. Ingestion, egestion and post-exposure effects of polystyrene microspheres on marine medaka (*Oryzias melastigma*) [J]. *Chemosphere*, 2019, 228: 93-100
- [24] Chen T H, Chou S M, Tang C H, et al. Endocrine disrupting effects of domestic wastewater on reproduction, sexual behavior, and gene expression in the brackish medaka *Oryzias melastigma* [J]. *Chemosphere*, 2016, 150: 566-575
- [25] Hong H Z, Shen R, Liu W X, et al. Developmental toxicity of three hexabromocyclododecane diastereoisomers in embryos of the marine medaka *Oryzias melastigma* [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2015, 101(1): 110-118
- [26] Huang Q S, Dong S J, Fang C, et al. Deep sequencing-based transcriptome profiling analysis of *Oryzias melastigma* exposed to PFOS [J]. *Aquatic Toxicology*, 2012, 120-121: 54-58
- [27] Huang Q S, Chen Y J, Chi Y L, et al. Immunotoxic effects of perfluorooctane sulfonate and di(2-ethylhexyl) phthalate on the marine fish *Oryzias melastigma* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 44(1): 302-306
- [28] Mu J L, Jin F, Ma X D, et al. Comparative effects of biological and chemical dispersants on the bioavailability and toxicity of crude oil to early life stages of marine medaka (*Oryzias melastigma*) [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2014, 33(11): 2576-2583
- [29] Sun L B, Zuo Z H, Chen M, et al. Reproductive and transgenerational toxicities of phenanthrene on female marine medaka (*Oryzias melastigma*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2015, 162: 109-116
- [30] Wang M H, Wang Y Y, Wang J, et al. Proteome profiles in medaka (*Oryzias melastigma*) liver and brain experimentally exposed to acute inorganic mercury [J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, 103(3-4): 129-139
- [31] Wang X J, Song L L, Chen Y, et al. Impact of ocean acidification on the early development and escape behavior of marine medaka (*Oryzias melastigma*) [J]. *Marine Environmental Research*, 2017, 131: 10-18
- [32] Yi X L, Leung K M Y. Assessing the toxicity of triphenyltin to different life stages of the marine medaka *Oryzias melastigma* through a series of life-cycle based experiments [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 124(2): 847-855
- [33] Kim B M, Kim J, Choi I Y, et al. Omics of the marine medaka (*Oryzias melastigma*) and its relevance to marine environmental research [J]. *Marine Environmental Research*, 2016, 113: 141-152
- [34] Sun J H, Xia S D, Ning Y, et al. Effects of microplastics and attached heavy metals on growth, immunity, and heavy metal accumulation in the Yellow Seahorse, *Hippocampus kuda* Bleeker [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 149: 110510
- [35] Jakubowska M, Białowas M, Stankevičiūtė M, et al. Effects of chronic exposure to microplastics of different polymer types on early life stages of sea trout *Salmo trutta* [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 740: 139922
- [36] Mazurais D, Ernande B, Quazuguel P, et al. Evaluation of the impact of polyethylene microbeads ingestion in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae [J]. *Marine Environmental Research*, 2015, 112: 78-85
- [37] Li Y J, Wang J, Yang G X, et al. Low level of polystyrene microplastics decreases early developmental toxicity of phenanthrene on marine medaka (*Oryzias melastigma*) [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 385: 121586
- [38] Naidoo T, Glassom D. Decreased growth and survival in small juvenile fish, after chronic exposure to environmentally relevant concentrations of microplastic [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 145: 254-259
- [39] Yin L Y, Liu H Y, Cui H W, et al. Impacts of polystyrene microplastics on the behavior and metabolism in a marine demersal teleost, black rockfish (*Sebastes schlegelii*) [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 380: 120861
- [40] Assas M, Qiu X C, Chen K, et al. Bioaccumulation and reproductive effects of fluorescent microplastics in medaka fish [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 158: 111446
- [41] Chen J C, Chen M Y, Fang C, et al. Microplastics negatively impact embryogenesis and modulate the immune response of the marine medaka *Oryzias melastigma* [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 158: 111349
- [42] Hicken C E, Linbo T L, Baldwin D H, et al. Sublethal exposure to crude oil during embryonic development alters cardiac morphology and reduces aerobic capacity in adult fish [J]. *PNAS*, 2011, 108(17): 7086-7090
- [43] Prokić M D, Radovanović T B, Gavrić J P, et al. Ecotoxicological effects of microplastics: Examination of biomarkers, current state and future perspectives [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2019, 111: 37-46 ◆