

微/纳米塑料对斑马鱼的生态效应研究进展

林金慧 李睿瑄 聂梦凡 胥明旺 王 纯

北京工商大学生态环境学院 国家环境保护食品链污染防治重点实验室 北京 100048

摘要: 微塑料 (MPs) 和纳米塑料 (NPs) 因具有环境稳定性、生物累积性以及生物毒性而受到全球广泛关注, 然而其生态效应与毒性机理的探究尚缺乏强有力的理论支撑。近年来, 模式生物斑马鱼因其具有基因同源性、生命周期短, 已成为环境污染物生态效应与毒理研究的理想受试生物, 越来越多地用于微/纳塑料的生物蓄积性和毒性研究, 也为微/纳米塑料以及其他污染物的毒性研究提供了更多的机会。本文归纳整理了微/纳米塑料进入斑马鱼体内的途径及体内迁移路线, 综述了微/纳米塑料对斑马鱼生物毒性以及与其他污染物的联合毒性效应, 为微/纳米塑料的研究提供理论基础。

关键词: 微塑料; 斑马鱼; 生态效应; 联合毒性; 机理

Research Progress on Ecological Effects of Micro/Nano Plastics on Zebrafish

Jinhui Lin Ruixuan Li Mengfan Nie Mingwang Xu Chun Wang

State Environmental Protection Key Laboratory of Food Chain Pollution Control, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China

Abstract: Microplastics (MPs) and nano-plastics (NPs) have attracted worldwide attention due to their environmental stability, bioaccumulation, and bio-toxicity. However, the research on its ecological effects and toxicity mechanism is still lacking strong theoretical support. In recent years, the model organism zebrafish has become an ideal subject for studying the ecological effects and toxicology of environmental pollutants due to its gene homology and short life cycle. The increasing use of micro/nano plastics in bioaccumulation and toxicity research also provides more opportunities for micro/nano plastics and other pollutants toxicity research. In this paper, the pathways and migration routes of micro/nano plastics into zebrafish were summarized, and the biotoxicity of micro/nano plastics to zebrafish and their combined toxic effects with other pollutants were reviewed, providing a theoretical basis for the research of micro/nano plastics.

Keywords: Microplastics; zebrafish; ecological effects; joint toxicity; mechanism

引言

全球塑料年产量已经从 1950 年的 200 万吨增加到 2020 年的近 4 亿吨^[1], 并且塑料的回收率非常低, 约 9%~40%。大型塑料碎片可以通过太阳辐射、机械力和微生物作用^[2]等途径分解成微塑料和纳米塑料。目前一般认为微塑料是指直径小于 5 mm 的塑料颗粒, 纳米塑料指直径小于 100 nm 的塑料颗粒^[3]。

有关微/纳米塑料的研究主要集中在海洋环境中, 然而在淡水环境中也检测出了丰度较高的微/纳米塑料。淡水鱼类对微塑料的摄入可以通过初级摄入发生, 也可以通过捕食体内已经含有微塑料的猎物后进行二次摄入。摄入体内的微塑料可能在细胞和分子水平上产生毒性作用, 对斑马鱼的生长、繁殖和生存产生负面影响^[7]。微塑料也可以经生物积累, 通过生物放大作用由食物链传播和积累进入人体, 威胁人类的身体健康。近年来, 以斑马鱼作为模式生物的微纳米塑料富集以及相关的毒性研究已受到广泛关注。斑马鱼是研究污染物毒性的经

典模式生物, 相较于藻类、水蚤、贻贝、和中华绒毛蟹等生物, 因斑马鱼具有基因同源性, 与人体基因亲缘高达 87%, 这意味着毒性实验的结果多数可适用于人体。此外, 斑马鱼具有试验周期短, 易操作等优良的实验特性, 所以斑马鱼在微塑料的吸收与积累以及毒性的研究中具备独特的优势。

基于此热点研究, 本文从微/纳米塑料在斑马鱼体内的吸收与富集开始, 通过归纳生长发育影响、肠道损伤与代谢毒性、神经与遗传毒性以及氧化应激失衡, 系统地综述微/纳米塑料对斑马鱼的单一/联合负面效应, 旨在为微/纳米塑料毒性机理研究提供理论依据与现实证据, 为后续微/纳米塑料的研究以及监管与管控提供科学参考。

一、微/纳米塑料在斑马鱼体内的吸收与迁移

1.1 吸收途径及组织器官积累

斑马鱼主要通过鱼鳃、口腔和皮肤三种途径吸收微/纳米塑料。鱼鳃是吸收与积累过程中最早与水生环境

相互作用的重要器官，此外鱼鳃的巨大表面积也为微塑料的聚集提供了可能。与其他器官相比，MPs / NPs 可以迅速积累在斑马鱼鱼鳃和肠道组织中，并且颗粒形状的微塑料可以通过斑马鱼鱼鳃进入体内。对于是否会通过口腔途径进行积累主要与微塑料的粒径和有关，其次取决于暴露方式。成年斑马鱼可以将 247.5 μm ，即相对较大的 MPs 识别为不可食用的材料而仅摄入少量微塑料。然而通过食源性暴露（即将微塑料与食物混合投喂进行暴露）会提高斑马鱼对微塑料的吸收积累，积累百分比增加到 0.5%~9.4%。

微塑料的主要积累器官有肠道、鱼鳃以及肝脏，其次粒径较小的微塑料可以通过血液循环到达肾脏以及其它偏远的组织。肠道是成年斑马鱼积累的主要场所。微塑料在鳃中的积聚可能是由鳃对渗透压平衡的主要功能引起的。文献表明，粒径较小的微塑料积累量遵循肠道 > 肝脏 > 鳃的顺序，粒径较大微塑料仅在肠道中检测到，在肝脏或鳃中没有检测到。总结而言，粒径因素对于微塑料的摄入与积累相对更重要。与微塑料相比，纳米塑料是粒径更小的塑料，更容易通过斑马鱼的口、鳃和皮肤在其体内积累。

1.2 体内迁移研究

一旦微 / 纳米塑料颗粒被鱼类摄入，就可以在整个鱼体中找到，到达循环以及远处的组织，如大脑或眼睛。微塑料可以穿过肠道屏障，通过血流到达肝脏和肾脏等器官。例如在斑马鱼的肝脏组织中发现了直径 5 μm 的微塑料颗粒，在海鲜市场收集的 11 种商业鱼类以及实验室中暴露于微 / 纳米塑料中的鱼类的肾脏中也发现了微 / 纳米塑料颗粒。同时，微 / 纳米塑料可以进入斑马鱼鱼鳃并在其中积累，纳米塑料可以通过水源性暴露在斑马鱼幼鱼的头部，并在眼睛中积累。

斑马鱼器官积累后的迁移路径研究对微 / 纳米塑料的毒性研究是至关重要的。李等采用具有荧光颜色的微塑料，可以通过荧光显微镜直观地观察微塑料在器官中的分布。荧光微塑料在体内迁移及生物积累研究中具备可视化与可量化的优点，在相关研究中采用荧光微塑料将更具说服力。

二、微塑料对斑马鱼的生物毒性

2.1 生长发育

微塑料对斑马鱼生长发育影响的研究主要从以下四个方面进行评估：生长发育、生殖毒性、骨骼毒性。

迄今为止，在生长参数方面的研究大多是从相对短期的 21 天的暴露中收集的，缺乏长期暴露下的研究数据及结论。现有研究证明，斑马鱼胚胎受精后 8-30 天（dpf），即短时间暴露于微塑料不会影响其生长，而长时间（90 和 360 dpf）暴露于微塑料或微塑料和苯并 [α] 芘（BaP）均会导致其体重和总长度的减少。生殖毒性方面，只暴露于微塑料不会对斑马鱼胚胎和幼鱼的致死和亚致死形态学参数产生显著影响，但是当微塑料分别

被苯并 [α] 芘、60 $\mu\text{g/L}$ 的铜和 125 $\mu\text{g/L}$ 的铜污染时，斑马鱼的繁殖力和胚胎质量都会受到影响，然而目前大多数研究仅聚焦日本青鲑鱼，斑马鱼的研究较少。评估骨骼毒性影响至关重要，骨缺损可能会损害鱼类的游泳性能，从而损害摄食活动和逃逸捕食的能力。未污染和受污染的微塑料都有可能影响斑马鱼轴向骨骼的发育，从而导致骨骼畸形的发生率增加，特别是在尾鳍区域。遗传毒性的研究发现，在喂食 MP-BaP 的 30 dpf 斑马鱼中，成骨细胞分化标记基因（sp7 和 oc2）和参与 ECM 矿化的基因（spp1, col1a1 和 col10a1）的表达上调。总体而言，MPs 对骨骼相关基因表达的影响的研究极少，有关微塑料短期和长期骨骼毒性的潜在机制还有待进一步研究。

2.2 肠道损伤及代谢毒性

肠道损伤与宿主代谢分析包括组织学、生物化学、代谢组学、微生物菌群分析等。以下图为例，斑马鱼摄入的 MPs 主要积累在肠道中，诱导肠道损伤（绒毛开裂和肠细胞分裂），引起炎症、肠壁变薄和上皮损伤（图 B、C）。通过生物化学分析，发现 MPs 处理的斑马鱼中观察到二胺氧化酶（DAO）降低和 d- 乳酸增加，说明肠道通透性增加。在 MPs 处理的斑马鱼中还观察到肠道代谢（氨基酸代谢和脂质代谢）紊乱，代谢组学研究发现脯氨酸、亮氨酸、赖氨酸等 9 种氨基酸代谢相关代谢物，以及丙二醇、亚油酸、棕榈酸等 6 种脂质代谢相关代谢产物在 MPs 处理的斑马鱼肠道中均发生显著变化。微生物菌群分析揭示暴露于 MPs 会导致斑马鱼的肠道微生物菌群生态失调，相对丰度发生显著变化，其中大多数属于肠道炎症的生物标志物变形杆菌门，因此微 / 纳米塑料暴露引发肠道炎症。MPs 的积累对于斑马鱼肠道有潜在健康风险，肠道中的氨基酸和脂质代谢以及肠道与其他器官的协同病变值得进一步研究。

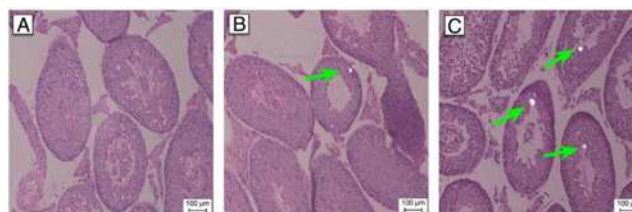


图 1 斑马鱼肠道组织切片（引用自文献）

Fig.1 zebrafish intestinal tissue sections (quoted from document)

2.3 氧化应激

氧化应激是氧自由基的产生和消除不平衡引起的状态。微塑料能在水生脊椎动物体内累积并产生毒性作用，研究发现微塑料能抑制斑马鱼的脂质代谢和能量代谢，诱导斑马鱼畸形及氧化应激，使超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化氢酶（CAT）等抗氧化酶的活性显著增加，对水生生物产生氧化损伤。此外微塑料的摄入可导致 GPx 表达增加，从而防止氧化损伤。在研究中发现，微塑料

在肠道组织中累积会引起炎症以及氧化应激, 微塑料暴露组的 CAT 和 SOD 显著增加, 表明氧化应激是微塑料引起的, 其中肠道组织中谷胱甘肽的增加更证实了这一点。谷胱甘肽是一种重要的细胞内抗氧化剂, 通过抑制它们的 DNA 以及蛋白质和脂质的反应, 防止自由基和活性氧 (ROS) 的随意形成, 且已证明微塑料可诱导 ROS 升高并引起炎症和氧化应激反应。研究发现苯醚甲环唑和微塑料的共同暴露会导致苯醚甲环唑的累积和 SOD、CAT 等酶活性的降低。联合暴露还会刺激抗氧化系统, 例如抗氧化酶活性增加和肝脏损伤。微塑料所引起的氧化应激反应, 仍需要大量的研究以证实其普遍性。

2.4 遗传毒性

Zhang 等人的研究发现, 作为原始载体的聚酰胺 (PA) 增加了有机磷阻燃剂磷酸三 (1, 3-二氯-2-丙基) 酯 (TDCIPP) 在相关剂量下对斑马鱼后代的遗传毒性。由于亲代的炎症反应和肠道损伤, 可能导致微塑料在子代中产生累积, 也显著加强了 TDCIPP 与微塑料的结合, 降低了 TDCIPP 的生物利用度, 减少了微塑料对斑马鱼肠道的损伤, 进而减弱了斑马鱼体内 PA 对 TDCIPP 的转基因毒性的促进作用。在研究中没有证据表明污染物的协同作用, 因此在其研究中观察到的 DNA 损伤被考虑来自 DNA 单链断裂、DNA 双链断裂、DNA 加合物形成以及由污染物 (或其代谢物) 与 DNA 相互作用引起的 DNA-DNA 和 DNA-蛋白质交联等。最后还有一点值得说明, 对于遗传毒性方向的研究远没有结束, 我们还需考虑其他方面的因素, 例如性别以及物种特异性是否影响实验结果, 更长的接触时间是否会产生更大的影响亦或是其他的反应, 这都有待我们进一步关注。

三、微塑料吸附污染物的联合毒性效应

有关微塑料的联合毒性近年来受到广泛的关注, MPs 对环境基质和共污染物的吸附以及共污染物的生物利用率决定了 MPs 的环境归宿和受污染 MPs 的生态毒性潜力。表 1 中总结了具代表性的污染物与微 / 纳米塑料的联合毒性机制。

表 1 微塑料联合毒性机制

Table 1 Microplastics combined with toxicity mechanisms

联合污染物		联合毒性作用机制
重金属	Cu	诱发斑马鱼幼鱼的高死亡率和氧化应激
	Cd	Cd 和微塑料浓度与致死性和亚致死毒性之间存在正相关关系

痕量有机物	双酚类似物	斑马鱼幼鱼的致死率提高, 对胚胎的致死性保持不变
	菲	加剧斑马鱼免疫力和氧化应激基因的表达
	磷酸三苯酯	极大地损害斑马鱼的繁殖性能
新污染物	9-硝基蒽	减少了 9-硝基蒽的生物蓄积性
	抗生素环丙沙星	降低环丙沙星有效浓度以及其毒性, 对蓄磷生物 (PAOs) 除磷有拮抗作用, 降低了 PAO 产生氧化应激的能力
	依泊康唑杀虫剂	导致更严重的组织损伤、功能障碍、氧化应激和代谢紊乱
新污染物	三氮唑类杀菌剂苯醚甲环唑	在一定程度上降低苯醚甲环唑在斑马鱼体内的生物蓄积, 减轻苯醚甲环唑在斑马鱼肝脏中的氧化应激损伤
	抗生素土霉素	导致肠上皮损伤, 减少了单次 OTC 暴露造成的肠道损伤, 肠道微生物群落受到微塑料和非处方药联合暴露的影响

联合毒性是微塑料与共污染物相互作用的复杂结果, 作用结果包括协同或拮抗。例如: 共同暴露于 MPs 和 Cu 会诱发斑马鱼幼鱼的高死亡率和氧化应激, 抑制乙酰胆碱酯酶活性, 引起幼鱼的神经毒性, 数据显示抗氧化酶在 6 dpf 时受到抑制, 此后由于活性氧的积累而增加至 14 dpf。在 MPs 和镉 (Cd) 的联合暴露下, 微塑料浓度与致死毒性和亚致死毒性之间存在正相关关系, 表现出协同亚致死毒性。有关痕量有机物的联合毒性也是研究的重点。双酚 F 和微塑料的共同暴露使幼鱼的致死率提高了 6.8~51%, 双酚 A 致死率提高了 6.7~30.1%。此外, 微塑料增强了菲的毒性, 两者具有协同作用。微塑料和磷酸三苯酯 (TPhP) 共同暴露会极大地损害斑马鱼的繁殖能力。Zhang 等人证实了聚乙烯 (PE) 可以将 9-硝基蒽 (9-NAnt) 携带到鱼类中, 导致生物蓄积, 但在共同暴露的情况下, PE 减少了 9-NAnt 的生物蓄积性。

微塑料与其他新污染物的联合暴露也是新的热点。Yang 等人研究了微塑料和抗生素环丙沙星 (CIP) 的联合暴露, 发现微塑料通过吸附 CIP 降低了其有效浓度, 从而降低了其毒性。研究发现与单一暴露源相比, 联合摄入聚苯乙烯和依泊康唑的生物蓄积和协同作用会导致更严重的组织损伤、功能障碍、氧化应激和代谢紊乱。此外我们还了解到在聚苯乙烯微塑料 (PS-MPs) 和三唑类杀菌剂苯醚甲环唑联合暴露情况下, PS-MPs 可以在一定程度上降低苯醚甲环唑在斑马鱼体内的生物蓄积以及氧化应激损伤。Yu 等人发现成年斑马鱼在纳米级聚苯乙烯微塑料和非处方药 (OTC) 共同暴露的情况下, 减少了单次 OTC 暴露造成对斑马鱼的肠道损伤。

四、结论与展望

微 / 纳米塑料主要通过鳃、口腔和皮肤进入斑马鱼体内并在内脏器官中积累，引起生长发育、肠道损伤及代谢毒性、遗传毒性等，同时吸附其他污染物，形成协同或拮抗毒性效应。尽管有关微 / 纳米塑料对斑马鱼的生态效应及毒性机理研究取得了系列进展，但仍存在待进一步研究的科学问题。

(1) 微 / 纳米塑料的检测技术有待拓展。目前常规检测方法有红外光谱法、拉曼光谱法、X 射线光电子能谱法、气相色谱 - 质谱法，但这些技术均存在检测限 (LODs) 问题，如果不进行预浓缩，则可能因为 LODs 过高导致不能用于检测纳米塑料。

(2) 微 / 纳米塑料在环境浓度的暴露值得深入。现有研究大部分聚焦实验室内高浓度暴露，而生态系统中环境浓度下的低剂量长期暴露更值得追踪。

(3) 微 / 纳米塑料与其他新污染物的联合毒性是前沿热点。联合毒性是微 / 纳米塑料与共污染物相互作用的复杂结果，其毒性不可低估，综合效应揭示对新污染

物的控制与安全监管至关重要。

参考文献：

[1] Geyer R, Jambeck J R, Law K L. Production, use, and fate of all plastics ever made [J]. *Science Advances*, 2017, 3(7).

[2] da Costa J P, Duarte A C, Rocha-Santos T A P. Chapter 1 - Microplastics - Occurrence, Fate and Behaviour in the Environment [M]//ROCHA-SANTOS T A P, DUARTE A C. *Comprehensive Analytical Chemistry*. Elsevier. 2017: 1-24.

[3] 王佳佳, 赵娜娜, 李金惠. 中国海洋微塑料污染现状与防治建议 [J]. *中国环境科学*, 2019, 39(07): 3056-63.

基金项目：大学生科研与创业行动计划项目(X012)；设施渔业教育部重点实验室（大连海洋大学）开放课题（202218）；公路交通环境保护技术交通运输行业重点实验室开放课题。