



微塑料与多环芳烃菲复合胁迫对七彩神仙鱼稳定同位素和生态化学计量学特征的影响

冯晓斌^{1,2,3,4}, 温彬^{1,2,3,4*}, 刘君恒^{1,2,3,4}, 张源^{1,2,3,4},
高建忠^{1,2,3,4}, 陈再忠^{1,2,3,4*}

- (1. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;
2. 上海海洋大学, 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306;
3. 上海海洋大学, 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306;
4. 上海海洋大学, 水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心, 上海 201306)

摘要: 为探讨微塑料和多环芳烃菲对七彩神仙鱼生长、能量存储、稳定同位素及生态化学计量学特征的影响, 实验设置了3个微塑料浓度(0、100、1000 $\mu\text{g/L}$)和2个菲水平(0、50 $\mu\text{g/L}$), 共3 \times 2个暴露组, 进行8周的养殖实验。结果显示: ① 幼鱼末体质量未受微塑料和菲影响, 但菲会降低肥满度, 且二者对肝体指数有交互影响: 50 $\mu\text{g/L}$ 菲下100 $\mu\text{g/L}$ 微塑料增加肝体指数, 100 $\mu\text{g/L}$ 微塑料下菲可提高肝体指数。② 幼鱼蛋白质含量随菲浓度升高而增加, 粗脂肪和碳水化合物均受微塑料和菲交互影响: 0 $\mu\text{g/L}$ 菲下微塑料增加会提高粗脂肪含量, 但会降低碳水化合物含量; 1000 $\mu\text{g/L}$ 微塑料下菲增加会降低粗脂肪含量, 但会提高碳水化合物含量。③ 幼鱼 $\delta^{13}\text{C}$ 随微塑料增加而降低, $\delta^{15}\text{N}$ 受二者交互影响, 但不同条件下无显著差异。④ 微塑料会增加幼鱼 C 含量, 菲则增加 N 含量, 而 P 含量还受二者交互影响, 0 $\mu\text{g/L}$ 菲下100 $\mu\text{g/L}$ 微塑料降低 P 含量, 而 50 $\mu\text{g/L}$ 菲下1000 $\mu\text{g/L}$ 微塑料降低 P 含量; 100 $\mu\text{g/L}$ 微塑料下菲增加会提高 P 含量, 但 1000 $\mu\text{g/L}$ 微塑料下菲增加会降低 P 含量; 幼鱼 C/N 受微塑料和菲单一暴露影响, 而 N/P 和 C/P 还受二者交互影响。研究表明, 微塑料和菲复合胁迫对七彩神仙鱼幼鱼生长和存活未造成显著影响, 但可能会通过改变鱼体组织能量存储, 导致其稳定同位素和生态化学计量学特征发生变化。

关键词: 七彩神仙鱼; 微塑料; 菲; 稳定同位素; 生态化学计量学

中图分类号: X 171; S 917

文献标志码: A

微塑料 (MPs) 指粒径小于 5 mm 的塑料碎片或颗粒。微塑料在海洋中普遍存在, 在淡水中污染也愈发严重, 威胁着浮游生物、无脊椎动物和脊椎动物的生命健康^[1-3]。微塑料比表面积大、疏水性强, 可从周围水环境中吸附重金属、有机污染物尤其是多环芳烃 (PAHs)、多氯联苯 (PCBs) 等持久性有机污染物 (POPs)^[4-6]。微塑料

与其表面吸附的污染物形成复合污染, 导致其对水生生物的毒性效应愈发复杂。

目前, 关于微塑料及其吸附有机污染物复合生态效应的研究已有报道。Oliveira 等^[7]发现微塑料与多环芳烃菲复合作用导致小眼长臀虾虎鱼 (*Pomatoschistus microps*) 乙酰胆碱酯酶和异柠檬酸脱氢酶活性显著降低。Rochman 等^[8]研究

收稿日期: 2019-10-19 修回日期: 2020-02-04

资助项目: 上海市扬帆计划 (19YF1419400); 国家自然科学基金 (31902376)

通信作者: 温彬, E-mail: bwen@shou.edu.cn; 陈再忠, E-mail: chenzz@shou.edu.cn

表明微塑料携带吸附的化学污染物可对日本青鳉 (*Oryzias latipes*) 的内分泌系统造成干扰效应。菲 (Phe) 是一种典型多环芳烃类化合物, 能致毒、致畸, 易在水中积累, 并可沿食物链传递, 对水生生物健康造成影响^[9]。Karami 等^[10] 发现水环境中微塑料和菲复合胁迫对尖齿胡鲇 (*Clarias gariepinus*) 血液生化参数和生殖轴相关基因的表达产生交互影响。

七彩神仙鱼 (*Symphysodon haraldi*), 原产于亚马逊河流域, 鱼体色彩绚丽、体型独特, 有“热带观赏鱼之王”的美称。七彩神仙鱼具独特育幼行为, 常作为污染物母体传递的实验动物^[11-12]。Wen 等^[13] 研究了微塑料和镉对七彩神仙鱼幼鱼的毒性效应, 本实验旨在探讨微塑料和菲复合胁迫对七彩神仙鱼生长存活、体组织能量存储以及 C、N 稳定同位素组成和 C、N、P 生态化学计量学特征的影响, 揭示新型污染物微塑料与多环芳烃菲之间相互作用对鱼类的生态毒理学效应, 为评估渔业水域中微塑料的生态风险提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与养殖管理

实验设 3 个微塑料浓度 (0、100、1000 $\mu\text{g/L}$) 与 2 个菲浓度 (0、50 $\mu\text{g/L}$), 共 3 \times 2 个暴露组。聚苯乙烯微塑料粒径 30~40 μm (天津倍思乐色谱技术开发中心), 菲纯度 $\geq 97.0\%$ (上海生工生物)。选取 270 尾同一生产批次的七彩神仙鱼仔稚鱼, 随机分至 18 个水族缸 (35 cm \times 45 cm \times 35 cm), 每组 3 个重复, 每缸投放仔稚鱼 15 尾。暴露过程中, 缸内保持 24 h 曝气, 溶解氧大于 6.5 mg/L, 水温维持 (29.0 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$, pH 5.6~6.8。每天投喂卤虫无节幼体 4 次 (8:00、12:00、14:00 和 20:00), 投喂量据鱼体摄食和生长情况进行调整, 投喂 1 h 后清理残饵粪便。每 2 天换水 1/2, 并补充维持微塑料和菲暴露浓度。实验周期为 8 周。

1.2 样品采集

养殖结束时统计幼鱼终末数量, 计算存活率 (survival rate, SR)。经 24 h 饥饿处理后, 测定幼鱼末体长 (final body length, FBL) 和末体质量 (final body weight, FBW), 计算肥满度 (condition factor, CF)。幼鱼经 MS-222 (100 mg/L) 麻醉后在冰台上进行解剖, 采集肝脏测定肝重, 计算肝体指数

(hepatosomatic index, HSI)。将鱼体组织于 -80°C 冷冻保存, 用于能量存储 (碳水化合物、粗脂肪和蛋白质)、稳定同位素 ($\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$)、生态化学计量学 (C、N、P 含量以及 C/N、N/P 和 C/P 摩尔比) 和 RNA/DNA 测定。

1.3 检测方法

碳水化合物测定采用苯酚-硫酸法^[14]。粗脂肪测定利用氯仿-甲醇提取法^[15]。 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 和 C、N 含量采用稳定同位素质谱仪 (ISOPRIME 100, Iso-prime Corporation, Cheadle, UK) 测定。P 含量利用电感耦合等离子体质谱仪 (iCAP RQ ICP-MS, Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany) 测定。RNA 和 DNA 测定参照 Jones 等^[16] 的方法。

1.4 数据计算及分析

存活率 (SR, %) = 终末数量 / 初始数量 $\times 100$

肥满度 (CF, g/cm^3) = (末体质量 / 末体长³) $\times 100$

肝体指数 (HSI, %) = (肝重 / 末体质量) $\times 100$

蛋白质 (%) = N 含量 (%) $\times 6.25$

碳、氮稳定同位素 $\delta X(\%) = [(R_{\text{样品}}/R_{\text{标准品}}) - 1] \times 1000$

式中, X 为 ^{13}C 或 ^{15}N , $R_{\text{样品}}$ 表示样品实际测得的同位素比值 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 或 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $R_{\text{标准品}}$ 表示国际通用标准物的重轻同位素丰度之比。

采用 SPSS statistics 20.0 对检测指标进行微塑料与菲双因素方差分析 (Two-way ANOVA), 若存在交互效应则采用 Tukey 检验进行多重比较, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。数据以平均值 \pm 标准差表示。

2 结果

2.1 微塑料和菲对七彩神仙鱼幼鱼存活和生长的影响

暴露结束后七彩神仙鱼存活率为 100%。幼鱼末体长仅受菲影响 (表 1), 随菲增加而增加 ($P < 0.05$) (图 1-a)。微塑料和菲对幼鱼末体质量未造成影响 ($P > 0.05$) (表 1 和图 1-b)。幼鱼肥满度受微塑料和菲单一暴露影响 (表 1), 随微塑料增加降低不显著 ($P > 0.05$), 但随菲增加而降低 ($P < 0.05$) (图 1-c)。幼鱼肝体指数受微塑料及二者交互影响 (表 1)。菲浓度为 0 $\mu\text{g/L}$ 时, 微塑料对肝体指数无显著影响 ($P > 0.05$), 但菲为 50 $\mu\text{g/L}$ 时, 100 $\mu\text{g/L}$ 微塑料提高肝体指数 ($P < 0.05$); 微塑料为 0 和 1000 $\mu\text{g/L}$ 时, 菲对肝体指数无显著影响 ($P >$

表 1 微塑料和菲对七彩神仙鱼幼鱼生长、能量存储、稳定同位素、生态化学计量学和 RNA/DNA 影响的双因素方差分析

Tab. 1 Two-way ANOVA results on effects of MPs and Phe on the growth, energy storage, stable isotope, ecological stoichiometry and RNA/DNA of juvenile discus fish

组别 group	未体长 FBL	未体质量 FBW	肥满度 CF	肝体指数 HSI	蛋白质 protein	粗脂肪 crude fat	碳水化 合物 carbohydrate	$\delta^{13}C$	$\delta^{15}N$	碳含量 C	氮含量 N	磷含量 P	碳氮比 C/N	氮磷比 N/P	碳磷比 C/P	RNA/D NA	
MPs	df	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	F	2.129	0.524	3.761	4.751	0.694	591.615	7.251	38.767	0.522	4.990	0.694	107.785	16.683	135.09	167.65	0.067
	P	0.137	0.597	0.035	0.016	0.518	<0.001	0.009	<0.001	0.606	0.026	0.518	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.935
Phe	df	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F	9.698	0.445	26.127	1.254	13.321	501.225	0.020	15.014	0.271	0.013	13.321	6.264	99.733	7.593	26.739	0.739
	P	0.004	0.510	<0.001	0.272	0.003	<0.001	0.890	0.002	0.612	0.911	0.003	0.028	<0.001	0.017	<0.001	0.407
MPs×Phe	df	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	F	0.272	0.864	1.130	6.027	3.765	156.729	92.035	0.625	5.579	2.474	3.765	331.93	1.033	308.52	353.26	0.251
	P	0.764	0.432	0.336	0.006	0.054	<0.001	<0.001	0.552	0.019	0.126	0.054	<0.001	0.385	<0.001	<0.001	0.782

注：表中加粗字体表示显著影响(P<0.05)

Notes: the bold data in the table mean significant impact (P<0.05)

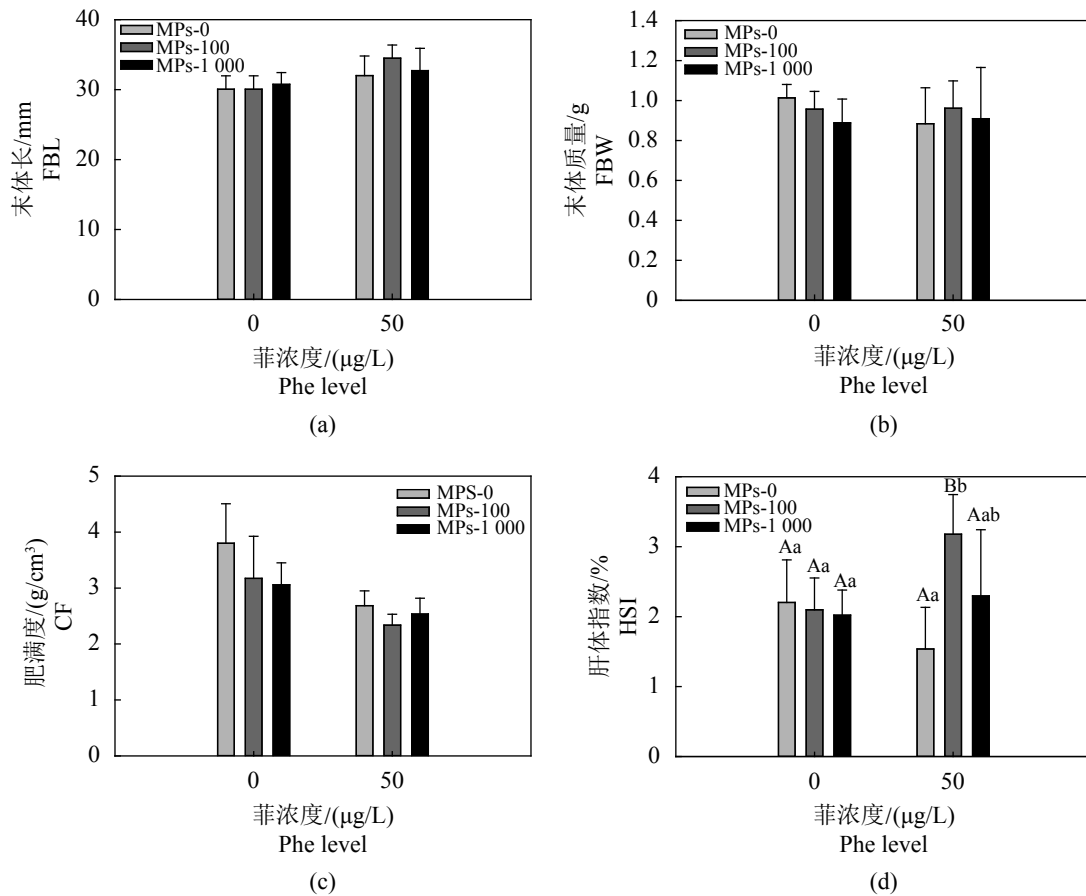


图 1 微塑料与菲对七彩神仙鱼幼鱼末体长 (a)、末体质量 (b)、肥满度 (c) 和肝体指数 (d) 的影响

不同小写字母表示同一菲浓度下不同微塑料暴露浓度具有显著差异, 不同大写字母表示同一微塑料浓度下不同菲暴露浓度具有显著差异 (P<0.05), 下同

Fig. 1 Effects of MPs and Phe on the FBL (a), FBW (b), CF (c) and HSI (d) of juvenile discus fish

Different lowercase letters mean significant differences between MPs concentrations within each phenanthrene level, the different uppercase letters mean significant differences between phenanthrene levels within each MPs concentration (P>0.05), the same below

0.05), 而微塑料为 100 $\mu\text{g/L}$ 时, 菲可提高肝体指数 ($P<0.05$) (图 1-d)。

2.2 微塑料和菲对七彩神仙鱼幼鱼能量存储的影响

七彩神仙鱼幼鱼蛋白质仅受菲影响 (表 1), 随菲增加而增加 ($P<0.05$) (图 2-a)。幼鱼粗脂肪受微塑料、菲及二者交互影响 ($P<0.05$) (表 1)。菲为 0 或 50 $\mu\text{g/L}$ 时, 微塑料会增加粗脂肪含量 ($P<0.05$); 微塑料为 0 $\mu\text{g/L}$ 时, 菲对粗脂肪无显著影响 ($P>0.05$), 但微塑料为 100 或 1000 $\mu\text{g/L}$ 时, 菲会降低粗脂肪水平 ($P<0.05$) (图 2-b)。幼鱼碳水化合物受微塑料及其与菲交互影响 ($P<0.05$) (表 1)。菲为 0 $\mu\text{g/L}$ 时, 碳水化合物含量随微塑料增加而降低 ($P<0.05$), 但为 50 $\mu\text{g/L}$ 时, 1000 $\mu\text{g/L}$ 微塑料可提高碳水化合物水平 ($P<0.05$); 微塑料为 0 $\mu\text{g/L}$ 时, 碳水化合物含量随菲增加而降低 ($P<0.05$), 但为 1000 $\mu\text{g/L}$ 时, 则随菲提高而增加 ($P<0.05$) (图 2-c)。

2.3 微塑料和菲对七彩神仙鱼幼鱼稳定同位素组成的影响

七彩神仙鱼幼鱼 $\delta^{13}\text{C}$ 受微塑料和菲单一暴露影响 ($P<0.05$) (表 1), 随菲增加无显著增加 ($P>0.05$), 但随微塑料增加而降低 ($P<0.05$) (图 3-a)。幼鱼 $\delta^{15}\text{N}$ 仅受微塑料和菲交互影响 ($P<0.05$) (表 1), 但不同暴露条件下差异不显著 ($P>0.05$) (图 3-b)。

2.4 微塑料和菲对七彩神仙鱼幼鱼生态化学计量学的影响

七彩神仙鱼幼鱼 C 含量仅受微塑料影响 (表 1), 随微塑料可增加而增加 ($P<0.05$) (图 4-a)。幼鱼 N 水平仅受菲影响 (表 1), 随菲增加而增加 ($P<0.05$) (图 4-b)。幼鱼 P 受微塑料、菲及二者交互影响 ($P<0.05$) (表 1)。菲为 0 $\mu\text{g/L}$ 时, 100 $\mu\text{g/L}$ 微塑料降低 P 含量 ($P<0.05$), 但为 50 $\mu\text{g/L}$ 时, 1000 $\mu\text{g/L}$ 微塑料降低 P 水平 ($P<0.05$); 微塑料为 100 $\mu\text{g/L}$ 时, 菲增加会增加 P 含量, 但为 1000 $\mu\text{g/L}$ 时, 菲增加会降低 P 水平 ($P<0.05$) (图 4-c)。幼鱼 C/N 受微塑料和菲单一暴露影响 ($P<0.05$) (表 1), 随微塑料可增加无显著增加 ($P>0.05$), 但随菲增加而降低 ($P<0.05$) (图 4-d)。幼鱼 N/P 和 C/P 受微塑料、菲及二者交互影响 ($P<0.05$) (表 1)。菲为 0 $\mu\text{g/L}$ 时, 100 $\mu\text{g/L}$ 微塑料可增加 N/P 和 C/P ($P<$

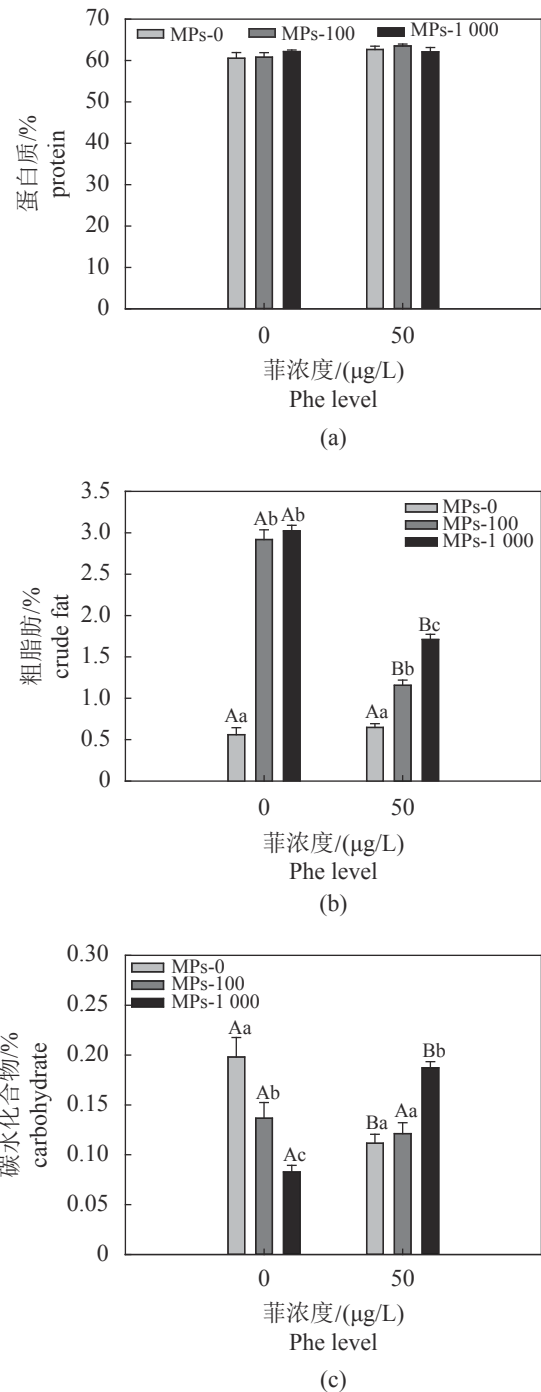


图 2 微塑料与菲对七彩神仙鱼幼鱼蛋白质 (a)、粗脂肪 (b) 和碳水化合物 (c) 的影响

Fig. 2 Effects of MPs and Phe on protein (a), crude fat (b) and carbohydrate (c) contents of juvenile discus fish

0.05), 但为 50 $\mu\text{g/L}$ 时, 1000 $\mu\text{g/L}$ 微塑料提高 N/P 和 C/P ($P<0.05$); 微塑料为 100 $\mu\text{g/L}$ 时, 菲增加会降低 N/P 和 C/P, 但为 1000 $\mu\text{g/L}$ 时, 菲提高会增加 N/P 和 C/P ($P<0.05$) (图 4-e,f)。

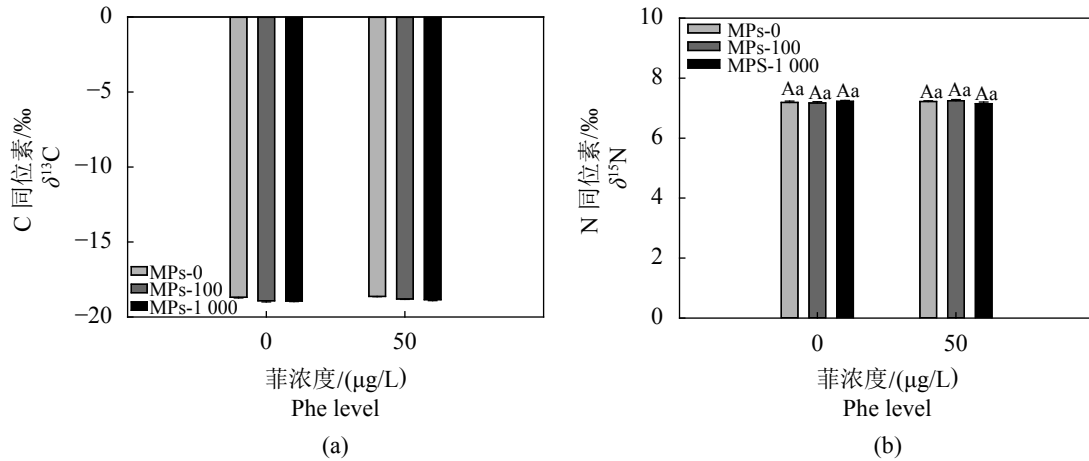


图3 微塑料与菲对七彩神仙鱼幼鱼 $\delta^{13}\text{C}$ (A) 和 $\delta^{15}\text{N}$ (B) 的影响

Fig. 3 Effects of MPs and Phe on $\delta^{13}\text{C}$ (A) and $\delta^{15}\text{N}$ (B) values of juvenile discus fish

2.5 微塑料和菲对七彩神仙鱼幼鱼 RNA/DNA 的影响

七彩神仙鱼幼鱼 RNA/DNA 未受微塑料、菲及二者交互影响 ($P>0.05$) (表 1), 不同暴露条件下差异不显著 ($P>0.05$) (图 5)。

3 讨论

微塑料暴露可以堵塞鱼类消化道使其产生饱腹感, 导致能量摄入不足, 进而影响其生长^[17], 而水体菲暴露可能会对鱼类健康和基本生理功能产生负面影响, 从而影响其生长^[18]。但在本研究中, 除了菲影响末体长以外, 微塑料和菲复合胁迫对七彩神仙鱼幼鱼末体质量和存活率均未产生显著影响。Wen 等^[13]关于微塑料与镉对七彩神仙鱼的毒理研究中, 也发现二者对幼鱼的生长和存活未造成显著负面影响, 推测七彩神仙鱼幼鱼对水体中 1000 $\mu\text{g/L}$ 微塑料和 50 $\mu\text{g/L}$ 菲有一定的适应性。肥满度可用来衡量鱼体的丰满程度、营养状况及所处环境条件^[19]。单一菲暴露降低了幼鱼肥满度, 但微塑料对肥满度影响不显著, 表明菲可能会影响七彩神仙鱼体型。这与 Jee 等^[18]发现菲暴露 (0.5~2.0 $\mu\text{mol/L}$) 对牙鲆肥满度未造成显著影响不一致, 可能是由受试对象和暴露浓度不同造成的。肝脏是鱼类重要的解毒器官, 有研究表明肝体指数升高可以表征肝脏代谢能力提高, 对有毒物质的解毒能力增强^[20], 这可能是共同暴露于微塑料和菲条件下七彩神仙鱼幼鱼肝体指数升高的原因。Lu 等^[21]发现微塑料会在斑马鱼肝脏中积累, 并导致肝

脏发生炎性损伤; Horng 等^[22]研究表明青鳉经菲暴露后出现了肝体指数升高现象, 这与本研究结果较为一致。

蛋白质、脂肪和碳水化合物是鱼类的三大营养物质, 参与体内物质与能量代谢。碳水化合物是第一个被呼吸或排泄的物质, 在鱼类受到外界胁迫时也会被迅速利用^[23-24]。这可能是本研究中碳水化合物含量随微塑料及菲单一暴露增加而降低的原因。Wen 等^[25]发现微塑料暴露后七彩神仙鱼能量代谢相关的酶活性显著提高, 暗示了大量的能量物质消耗。Oliveira 等^[26]发现多环芳烃胁迫下虾虎鱼异柠檬酸脱氢酶活性会升高。岳南南等^[27]研究表明中华倒刺鲃 (*Spinibarbus sinensis*) 投喂含菲的饲料后肝糖原和肌糖原含量会降低。与此同时, 机体也需较高的脂肪利用来支持呼吸和新组织的建立^[28], 例如 Yin 等^[29]发现许氏平鲈 (*Sebastods schlegelii*) 经微塑料暴露 21 d 后其体组织脂肪含量显著降低。本研究中 100 或 1000 $\mu\text{g/L}$ 微塑料下菲暴露也降低了幼鱼粗脂肪水平, 推测七彩神仙鱼幼鱼面对微塑料与菲复合胁迫时能量消耗优先利用碳水化合物, 其次是脂肪。类似地, 高露姣等^[30]发现饥饿胁迫下史氏鲟 (*Acipenser schrenckii*) 幼鱼动用储存物质的顺序依次是糖原和脂肪。微塑料对有机污染物的吸附会交互改变二者的环境风险和生物利用度^[31]。由于交互效应, 0 或 50 $\mu\text{g/L}$ 菲下微塑料增加了七彩神仙鱼幼鱼粗脂肪含量, 以及 50 $\mu\text{g/L}$ 菲下 1000 $\mu\text{g/L}$ 微塑料 (或 1000 $\mu\text{g/L}$ 微塑料下菲) 提高了碳水化合物水平。类似地, Karami 等^[10]发现尖齿胡鲶 (*Clarias gariepinus*) 暴

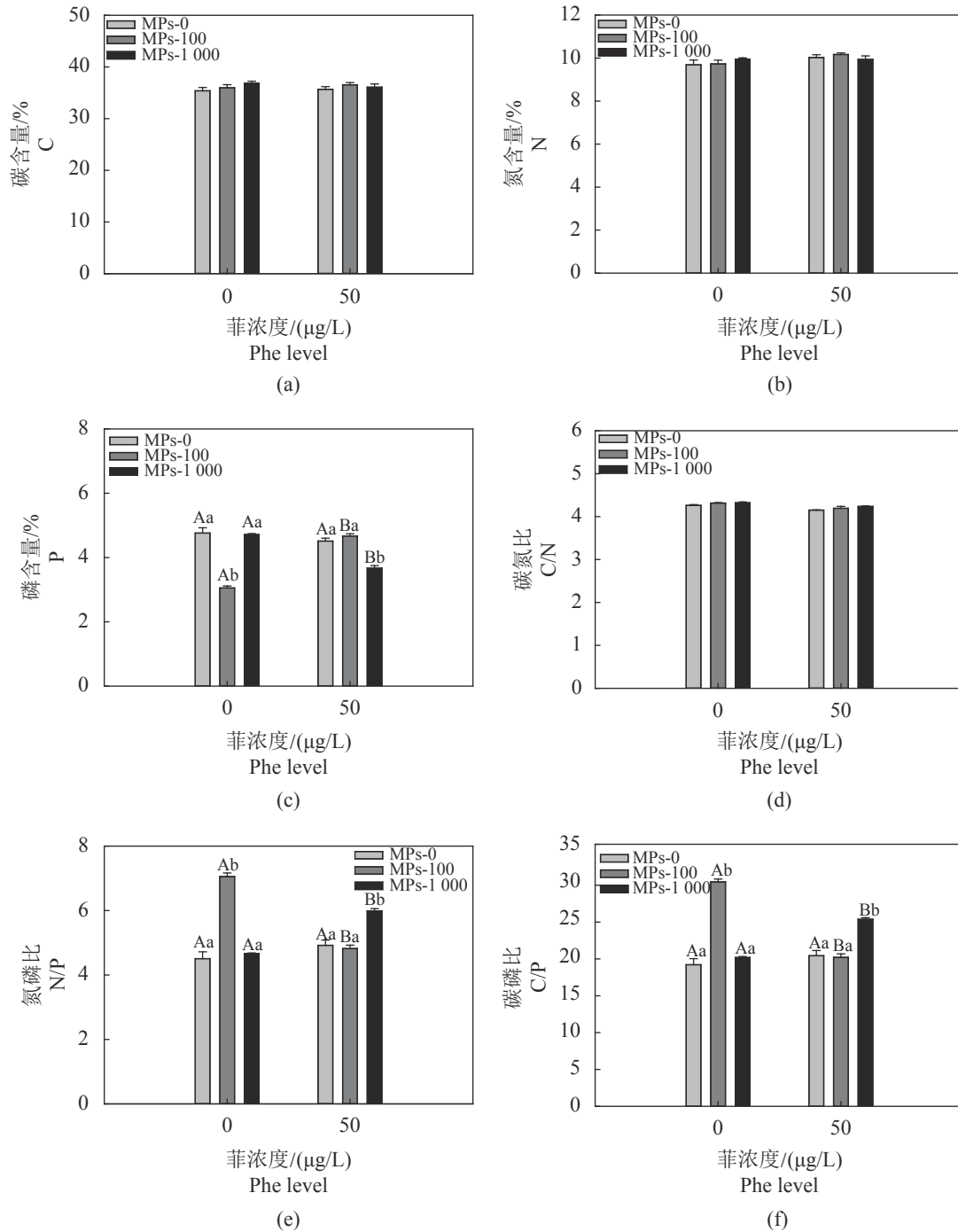


图 4 微塑料与菲对七彩神仙鱼幼鱼 C (a)、N (b)、P (c) 含量及 C/N (d)、N/P (e) 和 C/P (f) 的影响

Fig. 4 Effects of MPs and Phe on C (a), N (b) and P (c) contents and C/N (d), N/P (e) and C/P (f) ratios of juvenile discus fish

露于 10 或 100 $\mu\text{g/L}$ 菲下 500 $\mu\text{g/L}$ 微塑料增加了肝脏糖原物质存储。除了碳水化合物和脂肪以外, 蛋白质也可在鱼类能量代谢中发挥作用, Yin 等^[29] 发现许氏平鲉经微塑料暴露后其蛋白质含量显著降低, 而本研究中微塑料未影响幼鱼蛋白质, 但菲浓度增加提高了蛋白质水平, 这可能是幼鱼受胁迫后能量需求升高的代偿性反应。

碳、氮稳定同位素可以反映消费者较长时间的食物信息, 是新陈代谢、消化吸收累积的结果^[32]。由于暴露过程中所投喂饵料是固定的, 所以幼鱼稳定同位素组成的变动可反映水体中微塑料和菲的影响情况。微塑料暴露降低了鱼体 $\delta^{13}\text{C}$, 生长速率和代谢周转率对同位素周转有重要贡献^[33], 推测七彩神仙鱼幼鱼体组织 $\delta^{13}\text{C}$ 变

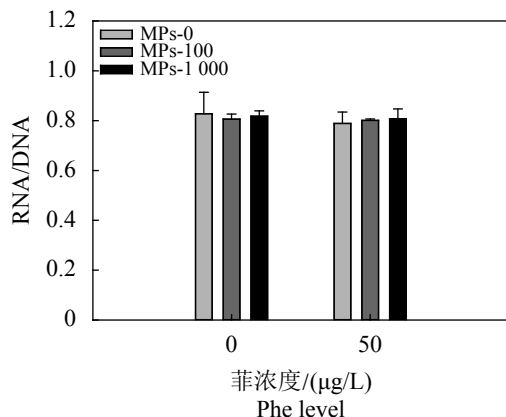


图5 微塑料与菲对七彩神仙鱼幼鱼 RNA/DNA 的影响

Fig. 5 Effects of MPs and Phe on RNA/DNA value of juvenile discus fish

化可能是微塑料暴露下生长速率和代谢周转率的响应。七彩神仙鱼体组织 $\delta^{15}\text{N}$ 虽受微塑料和菲复合胁迫的交互影响, 但不同条件下差异不显著。Zhu 等^[34] 发现微塑料暴露下土壤弹尾虫 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 显著升高, 这与本研究结果不一致, 表明微塑料引起的同位素组成变化可能具有物种特异性。

C、N、P 是生物体重要的构成元素, 且与水生生物机体的生化组成具有相关性, 例如 N 元素是蛋白质、核酸、游离氨基酸的主要组分, 而 P 元素主要存在于磷脂和核酸^[35]。生态化学计量学假设机体的元素组成保持相对恒定, 即是稳态^[36]。当环境、饵料等因素发生改变时, 组成元素会发生周变化以维持机体的稳态。因此, 分析 C、N、P 元素平衡的变化可更好地了解环境胁迫下鱼类生长和代谢等生理过程的响应。本研究中, 微塑料单一暴露增加了七彩神仙鱼幼鱼 C 含量, 这可能是因为胁迫条件下动物会提高新陈代谢, 将资源分配至防御机制和维持, 包括增加生产富含 C 的生物分子^[37]。菲单一暴露增加了 N 水平, 可能归结于胁迫下增加合成富含 N 的蛋白质^[38], 这一推测被菲暴露下提高的蛋白质水平所支持。微塑料和菲单一暴露影响了幼鱼 C/N, 尤其是菲可显著降低 C/N, 这主要是由于 N 含量的增加所致。微塑料影响了 P 水平且与菲产生了交互效应使 P 普遍降低, 但含 P 的 RNA 含量在不同暴露条件下未发生显著变化, 因而降低的 P 可能主要由其他含 P 物质比如磷脂的消耗所致^[35]。除了单一作用以外, 微塑料和菲

对 N/P 和 C/P 也产生了交互效应, 这些化学计量学响应可能与富含 C 的脂肪和碳水化合物以及富含 N 的蛋白质存储变化有关^[39]。

鱼类生长实际上是通过蛋白质合成实现的, 蛋白质合成取决于 RNA 含量的变化, 单个细胞的 DNA 含量是一定的, 所以 RNA/DNA 比值的变化可反映体内蛋白质合成状况, 可作为了解鱼类生长和营养条件的指标之一^[40-41]。本研究中, RNA/DNA 未受微塑料、菲及二者交互影响, 这与幼鱼末体质量未受微塑料和菲的影响相一致。

4 结论

综上所述, 微塑料和菲暴露对七彩神仙鱼幼鱼生长存活无显著影响, 但可能会通过改变鱼体组织能量存储, 致使稳定同位素和生态化学计量学发生变化。该研究结果有助于增加对微塑料与菲对鱼类生态毒性效应的认知, 为二者污染的生态风险评估提供科学依据。

参考文献 (References):

- [1] Browne M A, Crump P, Niven S J, *et al.* Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks[J]. *Environmental Science and Technology*, 2011, 45(21): 9175-9179.
- [2] Su L, Xue Y G, Li L Y, *et al.* Microplastics in Taihu Lake, China[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 216: 711-719.
- [3] Chae Y, An Y J. Effects of micro- and nanoplastics on aquatic ecosystems: Current research trends and perspectives[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 124(2): 624-632.
- [4] 李文华, 简敏菲, 刘淑丽, 等. 鄱阳湖湖口-长江段沉积物中微塑料与重金属污染物的赋存关系[J]. *环境科学*, 2020, 41(1): 242-252.
Li W H, Jian M F, Liu S L, *et al.* Occurrence relationship between microplastics and heavy metals pollutants in the estuarine sediments of Poyang Lake and the Yangtze River[J]. *Environmental Science*, 2020, 41(1): 242-252(in Chinese).
- [5] Brennecke D, Duarte B, Paiva F, *et al.* Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment[J]. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 2016, 178: 189-195.

- [6] Ziccardi L M, Edgington A, Hentz K, *et al.* Microplastics as vectors for bioaccumulation of hydrophobic organic chemicals in the marine environment: A state-of-the-science review[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2016, 35(7): 1667-1676.
- [7] Oliveira M, Ribeiro A, Hylland K, *et al.* Single and combined effects of microplastics and pyrene on juveniles (0+ group) of the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae)[J]. *Ecological Indicators*, 2013, 34: 641-647.
- [8] 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.
- [9] 许友卿, 钟艺文, 韩进华, 等. 菲对水生动物繁育和生长的影响及机理[J]. *饲料工业*, 2018, 39(16): 61-64.
Xu Y Q, Zhong Y W, Han J H, *et al.* Effect and mechanism of phenanthrene on the reproduction, development, and growth of aquatic animal[J]. *Feed Industry*, 2018, 39(16): 61-64(in Chinese).
- [10] Karami A, Romano N, Galloway T, *et al.* Virgin microplastics cause toxicity and modulate the impacts of phenanthrene on biomarker responses in African catfish (*Clarias gariepinus*)[J]. *Environmental Research*, 2016, 151: 58-70.
- [11] Buckley J, Maunder R J, Foey A, *et al.* Biparental mucus feeding: a unique example of parental care in an Amazonian cichlid[J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2010, 213: 3787-3795.
- [12] Maunder R J, Buckley J, Val A L, *et al.* Accumulation of dietary and aqueous cadmium into the epidermal mucus of the discus fish *Symphysodon* sp.[J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, 103(3-4): 205-212.
- [13] Wen B, Jin S R, Chen Z Z, *et al.* Single and combined effects of microplastics and cadmium on the cadmium accumulation, antioxidant defence and innate immunity of the discus fish (*Symphysodon aequifasciatus*)[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 243: 462-471.
- [14] 徐汪伟, 魏晴, 高炳淼, 等. 苯酚-硫酸法测定中药海马总多糖的含量的研究[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2015, 36(03): 391-392.
Xu W W, Wei Q, Gao B M, *et al.* Study on determination of total polysaccharide in hippocampus of traditional Chinese medicine by phenol-sulfuric acid method[J]. *Journal of Qiqihar University of Medicine*, 2015, 36(03): 391-392(in Chinese).
- [15] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification[J]. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 1959, 37(8): 911-917.
- [16] Jones L J, Yue S T, Cheung C Y, *et al.* RNA quantitation by fluorescence-based solution assay: RiboGreen reagent characterization[J]. *Analytical Biochemistry*, 1998, 265(2): 368-374.
- [17] Critchell K, Hoogenboom M O. Effects of microplastic exposure on the body condition and behaviour of planktivorous reef fish (*Acanthochromis polyacanthus*)[J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0193308.
- [18] Jee J H, Kim S G, Kang J C. Effects of phenanthrene on growth and basic physiological functions of the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2004, 304(1): 123-136.
- [19] Bervoets L, Blust R. Metal concentrations in water, sediment and gudgeon (*Gobio gobio*) from a pollution gradient: relationship with fish condition factor[J]. *Environmental Pollution*, 2003, 126(1): 9-19.
- [20] Corsi I, Mariottini M, Sensini C, *et al.* Fish as bioindicators of brackish ecosystem health: Integrating biomarker responses and target pollutant concentrations[J]. *Oceanologica Acta*, 2003, 26(1): 129-138.
- [21] Lu Y, Zhang Y, Deng Y, *et al.* Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver[J]. *Environmental Science and Technology*, 2016, 50(7): 4054-4060.
- [22] Horng C Y, Lin H C, Lee W. A reproductive toxicology study of phenanthrene in medaka (*Oryzias latipes*)[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2010, 58(1): 131-139.
- [23] Javed M, Usmani N. Stress response of biomolecules (carbohydrate, protein and lipid profiles) in fish *Channa punctatus* inhabiting river polluted by Thermal Power Plant effluent[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2015, 22(2): 237-242.
- [24] Saravanan M, Kumar K P, Ramesh M. Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute and chronic sublethal exposure to lindane[J]. *Pesti-*

- cide *Biochemistry and Physiology*, 2011, 100(3): 206-211.
- [25] Wen B, Zhang N, Jin S R, *et al.* Microplastics have a more profound impact than elevated temperatures on the predatory performance, digestion and energy metabolism of an Amazonian cichlid[J]. *Aquatic Toxicology*, 2018, 195: 67-76.
- [26] Oliveira M, Gravato C, Guilhermino L. Acute toxic effects of pyrene on *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae): Mortality, biomarkers and swimming performance[J]. *Ecological Indicators*, 2012, 19: 205-214.
- [27] 岳南南, 王汨, 闫玉莲, 等. 饲料中不同浓度菲对中华倒刺鲃几种血液学指标和肝胰脏的影响[J]. *水生生物学学报*, 2014, 38(2): 304-311.
- Yue N N, Wang M, Yan Y L, *et al.* Effects of dietary PHE exposure on the haematological indexes and hepatopancreas of *Spinibarbus sinensis*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, 38(2): 304-311(in Chinese).
- [28] Tolosa I, Treignier C, Grover R, *et al.* Impact of feeding and short-term temperature stress on the content and isotopic signature of fatty acids, sterols, and alcohols in the scleractinian coral *Turbinaria reniformis*[J]. *Coral Reefs*, 2011, 30(3): 763.
- [29] Yin L, Chen B, Xia B, *et al.* Polystyrene microplastics alter the behavior, energy reserve and nutritional composition of marine jacobever (*Sebastes schlegelii*)[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 360: 97-105.
- [30] 高露姣, 陈立侨, 宋兵. 饥饿和补偿生长对史氏鲟幼鱼摄食、生长和体成分的影响[J]. *水产学报*, 2004, 28(3): 279-284.
- Gao L J, Chen L Q, Song B. Effect of starvation and compensatory growth on feeding, growth and body biochemical composition in *Acipenser schrenckii* juveniles[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(3): 279-284(in Chinese).
- [31] 王文锋. 华中地区湖泊微塑料污染特征及其与菲、芘的吸附行为研究 [D]. 武汉: 中国科学院大学 (中国科学院武汉植物园), 2018.
- Wang W F. A study on microplastics pollution in lakes of central China and the sorptive behavior of phenanthrene and pyrene onto microplastics[D]. Wuhan: University of Chinese Academy of Sciences (The Wuhan Botanical Garden of the Chinese Academy of Sciences), 2018 (in Chinese).
- [32] 王震, 田甲申, 李多慧, 等. 海湾扇贝碳氮稳定同位素的分馏系数和转化率研究[J]. *水产科学*, 2018, 37(2): 145-151.
- Wang Z, Tian J S, Li D H, *et al.* Fractionation and turnover of carbon and nitrogen stable Isotopes in tissues of Bay scallop (*Argopecten irradians*)[J]. *Fisheries Science*, 2018, 37(2): 145-151(in Chinese).
- [33] Ek C, Gerdes Z, Garbaras A, *et al.* Growth retardation and altered isotope composition as delayed effects of PCB exposure in *Daphnia magna*[J]. *Environmental Science and Technology*, 2016, 50(15): 8296-8304.
- [34] Zhu D, Chen Q L, An X L, *et al.* Exposure of soil collembolans to microplastics perturbs their gut microbiota and alters their isotopic composition[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 116: 302-310.
- [35] Ventura M. Linking biochemical and elemental composition in freshwater and marine crustacean zooplankton[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2006, 327: 233-246.
- [36] Sterner R W, Elser J J. Ecological stoichiometry: the biology of elements from molecules to the biosphere[M]. Princeton University Press, 2002.
- [37] Hawlena D, Schmitz, O J. Physiological stress as a fundamental mechanism linking predation to ecosystem functioning[J]. *The American Naturalist*, 2010, 176(5): 537-556.
- [38] Janssens L, Van Dievel M, Stoks R. Warming reinforces nonconsumptive predator effects on prey growth, physiology, and body stoichiometry[J]. *Ecology*, 2015, 96(12): 3270-3280.
- [39] Janssens L, Op de Beeck L, Stoks R. Stoichiometric responses to an agricultural pesticide are modified by predator cues[J]. *Environmental Science and Technology*, 2017, 51(1): 581-588.
- [40] Buckley L, Caldarone E, Ong T L. RNA-DNA ratio and other nucleic acid-based indicators for growth and condition of marine fishes[J]. *Hydrobiologia*, 1999, 401: 265-277.
- [41] 司亚东, 金有坤, 周洪琪, 等. 鲤鱼白肌中RNA/DNA值与其生长的关系[J]. *上海水产大学学报*, 1992, 1(3-4): 159-167.
- Si Y D, Jin Y K, Zhou H Q, *et al.* RNA/DNA ratio in white muscle of Carp (*Cyprinus carpio* L.) and its relationship with growth rate[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 1992, 1(3-4): 159-167(in Chinese).

Effects of microplastics and phenanthrene on the stable isotope and ecological stoichiometry of juvenile discus fish (*Symphysodon haraldi*)

FENG Xiaosa^{1,2,3,4}, WEN Bin^{1,2,3,4*}, LIU Junheng^{1,2,3,4}, ZHANG Yuan^{1,2,3,4},
GAO Jianzhong^{1,2,3,4}, CHEN Zaizhong^{1,2,3,4*}

(1. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. Shanghai Collaborative Innovation for Aquatic Animal Genetics and Breeding,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: To investigate the effects of microplastics and phenanthrene on the growth, energy storage, stable isotope composition and ecological stoichiometry of the juvenile discus fish (*Symphysodon haraldi*), we set three concentrations of microplastics (0, 100 and 1 000 $\mu\text{g/L}$) and two levels of phenanthrene (0 and 50 $\mu\text{g/L}$), forming a total of six exposure combinations for eight weeks. The results showed that the final body weight of fish was not influenced by exposure to microplastics and phenanthrene, but exposure to phenanthrene reduced the condition factor. The hepatosomatic index (HSI) was influenced by the interaction of microplastics and phenanthrene. Exposure to 100 $\mu\text{g/L}$ microplastics increased HSI under 50 $\mu\text{g/L}$ phenanthrene, and exposure to phenanthrene increased HSI under 100 $\mu\text{g/L}$ microplastics. The protein content increased with increased concentrations of phenanthrene. Microplastics and phenanthrene had an interaction effect on carbohydrate and crude fat contents. Increased concentrations of microplastics increased crude fat content but reduced carbohydrate level under 0 $\mu\text{g/L}$ phenanthrene, and exposure to phenanthrene decreased crude fat content but increased carbohydrate level under 1 000 $\mu\text{g/L}$ microplastics. The $\delta^{13}\text{C}$ of juveniles decreased with increase concentrations of microplastics. The $\delta^{15}\text{N}$ was influenced by the interaction of microplastics with phenanthrene, but no significant differences between exposure combinations were observed. Exposure to microplastics increased body C content and exposure to phenanthrene increased N level. Moreover, microplastics and phenanthrene had an interaction effect on P content. Exposure to 100 $\mu\text{g/L}$ microplastics reduced P content under 0 $\mu\text{g/L}$ phenanthrene but exposure to 1 000 $\mu\text{g/L}$ microplastics reduced P level under 50 $\mu\text{g/L}$ phenanthrene. Exposure to phenanthrene increased P content under 100 $\mu\text{g/L}$ microplastics but reduced P level under 1 000 $\mu\text{g/L}$ microplastics. The C/N ratio was influenced by exposure to microplastics or phenanthrene alone, but ratios of N/P and C/P were also affected by the interaction of microplastics and phenanthrene. The results of this study suggest that exposure to microplastics and phenanthrene showed no significant effect on the growth and survival of juvenile discus fish, but it could change the energy reserves of fish body, which might account for the changes in their stable isotope composition and C, N and P stoichiometry characteristics. The results of this study can provide scientific basis for the ecological risk assessment of microplastics and phenanthrene in aquaculture waters.

Key words: *Symphysodon haraldi*; microplastics; phenanthrene; stable isotope; ecological stoichiometry

Corresponding authors: WEN Bin. E-mail: bwen@shou.edu.cn; CHEN Zaizhong. E-mail: chenzz@shou.edu.cn

Funding projects: Shanghai Sailing Program (19YF1419400); National Natural Science Foundation of China (31902376)