

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20190228003

何锦, 薛永来, 周磊, 等. 几类常见污染物对斑马鱼运动影响的研究进展[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(2): 19-28

He J, Xue Y L, Zhou L, et al. Research advances in the effects of several common pollutants on zebrafish movement [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(2): 19-28 (in Chinese)

几类常见污染物对斑马鱼运动影响的研究进展

何锦, 薛永来*, 周磊, 崔雯, 高璐, 杜道林

江苏大学环境与安全工程学院, 镇江 212013

收稿日期: 2019-02-28 录用日期: 2019-05-13

摘要: 随着工农业的快速发展和人们生活水平的提高, 排放到环境中的污染物种类及数量正在急剧上升, 引发了日益严峻的环境问题。环境污染物对生物体内的各项生理活动也产生着深远的影响。为探究污染物对斑马鱼运动系统的影响, 本文就斑马鱼运动发生的调控机理以及不同类型的环境污染物对斑马鱼运动行为系统干扰的研究进展进行了综合阐述, 归纳了各类污染物对斑马鱼运动神经的损伤效应, 在分子水平上探讨了其可能的作用机制, 并且展望了环境污染物对斑马鱼运动神经毒性的未来研究方向。

关键词: 环境污染物; 斑马鱼; 运动神经损伤

文章编号: 1673-5897(2020)2-019-10 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Research Advances in the Effects of Several Common Pollutants on Zebrafish Movement

He Jin, Xue Yonglai*, Zhou Lei, Cui Wen, Gao Lu, Du Daolin

School of the Environment and Safety Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

Received 28 February 2019 accepted 13 May 2019

Abstract: With the rapid development of agro-industry and the improvement of human's living standards, the types and amounts of pollutants discharged into the environment are rising sharply, and these pollutants are causing increasingly serious environmental problems. Environmental pollutants also have a profound impact on various physiological activities in living organisms. With the aim to explore the effects of pollutants on the zebrafish movement system, this study elaborates the research status of regulation and mechanism of zebrafish movement and the influence of different kinds of environmental pollutants on zebrafish movement behavior system. We summarize the damage effects of various pollutants on zebrafish motor nerves, discuss the possibility of the action mechanism at the molecular level, and propose the future research direction of the influence of environmental pollutants on zebrafish motor nerve.

Keywords: environmental pollutants; zebrafish; motor nerve damage

近年来, 随着我国经济的快速发展, 水环境的污染问题也日趋严重。环境中各种污染物在水体中的

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31100379, 31601380); 江苏大学高级人才基金资助项目(10JGD056)

作者简介: 何锦(1995—), 男, 硕士研究生, 研究方向为生态毒理学, E-mail: 821053378@qq.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: xueyonglai@sina.com

积累不仅会对水生生物的生存环境构成威胁,同时也会通过饮用水、食物链或是与人体的直接接触等途径对人类的健康造成直接或间接的影响。运动系统是生物体生长发育的基础,运动神经元的作用是将来自脊髓或者大脑发出信号传递至肌肉及内分泌腺体,从而支配效应器官神经元的活动,进而影响机体行为的发生^[1]。关于鱼类运动,已有许多科学家进行过相关的研究。任宗明等^[2]发现氰戊菊酯和氯化镉的暴露会导致日本青鳉的运动强度显著降低。张融等^[3]提出了一种利用自动阈值分割、背景差分法、帧差法和骨架细化等图像处理方法来计算青鳉鱼胸鳍及尾鳍的摆动频率和幅值。同时,也有诸多研究^[4-8]表明,环境污染物对其他生物体的行为以及运动神经系统造成不同程度的影响。而运动神经的受损会在很大程度上影响生物体的生长发育,这也使得污染物的暴露对于生物体运动神经系统的影响成为近年来研究的热点。斑马鱼作为一种经典的实验室模式动物,因其对水环境的变化十分敏感,其内分泌调节、呼吸运动以及生长发育等都是水质检测的重要指标^[9],使得利用斑马鱼进行急性毒性试验成为水体环境中污染物综合毒性的有效检测方法。早在20世纪,已有科学家将斑马鱼应用于遗传学、急性毒性以及环境风险评价的研究中^[10]。国际标准化组织(ISO)还将斑马鱼确定为生态环境测试的标准用鱼^[11]。

为明确环境污染物对斑马鱼的运动神经系统的损伤作用,研究人员选用不同种类的污染物对斑马鱼进行暴露并得出大量的相关毒性数据,这对于污染物在水环境中的生态风险评估具有重要意义^[12-16]。迄今为止,虽已有大量的文献报道了不同种类的环境污染物对于斑马鱼运动神经系统的干扰作用,但相对较为零散,没有全面且系统地来归纳、阐述环境污染物对斑马鱼运动神经的损伤及其毒性作用机制。因此,在前人研究的基础上,本文重点综述环境污染物对斑马鱼的运动神经毒性的最新研究进展,归纳分析不同种类的环境污染物对斑马鱼的行为系统造成的不同程度的损伤,阐述不同性别以及不同发育阶段下的斑马鱼在污染物影响下,其运动神经受到干扰效应的差异,并对该领域未来的研究方向进行展望。

1 斑马鱼运动神经系统概述(Overview of the zebrafish motor nervous system)

斑马鱼的运动行为离不开体内的神经系统、免

疫系统和代谢系统等多个系统的分工合作^[17]。当机体受到外界环境刺激后,由中枢神经系统(central nervous system, CNS)发出行为指令,相应的器官组织接收到行为指令后,需要代谢系统提供相应行为所需的能量,免疫系统则负责消除由于外部刺激所导致的机体内生化反应的失衡,如氧化应激反应。当斑马鱼暴露于污染物之后,这些系统功能若受损,均会在不同程度上引发斑马鱼运动行为的变化^[18-20]。

1.1 多巴胺能神经元调控运动行为

中枢神经系统在调控斑马鱼运动中起主要作用。中枢神经分泌神经递质来充当信使的角色,将“命令”传达到各个器官组织,促使组织做出相应的行为来完成生理活动。中枢神经系统中的多巴胺能神经元与斑马鱼的运动行为密切相关^[21]。多巴胺能神经元在哺乳动物中位于中脑,已有研究证明,在斑马鱼脑中也存在多巴胺能神经元^[22-24]。多巴胺能神经元分泌的多巴胺(dopamine, DA)是中枢神经中的主要神经递质之一,可通过多巴胺受体(DA2R)来传递信号。多巴胺受体可大致分为D1和D2两类,其中D1类受体包括D1和D5受体,D2类受体包括D2、D3和D4受体。在中枢神经系统内,多巴胺能神经元调控机体运动发出的神经纤维通路有4条。(1)黑质-纹状体通路:以中脑黑质A9细胞群为起点,作用至纹状体,主要为尾核、壳核和中央杏仁核,其主要作用是调节机体运动;(2)中脑-边缘系统通路:始于中脑脚间核背侧的A11细胞群,轴索上行可达伏隔核以及嗅结节,主要调控机体的情绪及行为动机;(3)结节-漏斗通路:起于下丘脑下部弓状核A12细胞群,止于正中隆起,主要参与调控机体内分泌激素的平衡;(4)中脑-皮质通路:起始于中脑腹侧A10细胞群,止于前额叶,此通路主要涉及学习和记忆^[25]。由于这几条通路的存在,多巴胺能神经元所涉及的机体生理功能众多,且密切参与生物体外系统运动功能的调控,如学习、运动能力及觅食活动等^[26]。此外,多巴胺及其受体还参与斑马鱼骨代谢的调节,对其破骨细胞、成骨细胞以及骨细胞和骨微环境都起着极其重要的作用^[27]。骨骼是运动系统中的主要组成,也是运动行为发生的根本。由此可见,多巴胺能神经元对斑马鱼运动有着重要的调控作用。

直接参与调控斑马鱼运动的是其脑内的黑质-纹状体通路。黑质是位于大脑脚底与中脑被盖之间的一块灰质团块,黑质细胞富含黑色素且为脑部中

合成多巴胺的主要核团。黑质细胞的变性以及多巴胺分泌减少是引发帕金森病的主要原因,同时黑质也是调控机体运动的重要中枢。而纹状体也是机体中重要的皮质下运动调控中枢,包括尾状核及壳核。参与行为控制以及运动学习、情绪变化以及行为动机等高级神经运动的调节^[28]。由于黑质以及纹状体的特异性结构,黑质-纹状体纤维通路又主要分为 3 条投射:(1)黑质致密部-尾壳核投射;(2)黑质前部-尾状核头部投射;(3)黑质后部-壳核投射^[25]。黑质以及纹状体调控运动的机理如图 1 所示。此外,斑马鱼脑中多巴胺能神经元纤维通路中的中脑-边缘通路也会在一定程度上导致运动行为发生变化。中脑-边缘系统主要与机体的奖赏效应相关,在将情绪转化成意向行为和活动中起重要作用^[29]。

1.2 氧化应激对斑马鱼运动行为的影响

中枢神经系统对斑马鱼的运动行为起主要调控作用,但是机体内氧化应激的发生对行为异常也有着不可忽略的影响。氧化应激是由机体内活性氧含量和活性氧清除能力的失衡所导致,且表现为对机体的负面效应。当细胞内活性氧含量相对升高时,即细胞处于氧化应激状态,可引起 DNA 氧化损伤

以及蛋白表达的异常,进而对机体造成损伤^[30-31]。神经组织一般具有高耗氧的特点,且相较于其他的组织器官,神经元对于氧化应激反应会更敏感。氧化应激信号通路 NRF2/ARE 是斑马鱼体内重要的抗氧化通路,由 Nrf2(对氧化还原反应十分敏感的转录因子)、ARE(顺式反应元件)以及调控基因表达 kelch 样 ECH 相关蛋白 1(kelch ECH association protein1, keap1)3 个部分组成。氧化应激反应发生时,Nrf2 和 keap1 解离后转移至细胞核与 ARE 结合,调节机体内氧化还原反应以及各种抗氧化物质的表达^[32-34]。进而氧化应激反应可导致体内自由基增多,而机体行为异常与这些自由基含量的上升密切相关^[35-37]。

1.3 线粒体对斑马鱼运动的支持

线粒体是机体进行有氧呼吸的主要场所,为生物体的各项生命活动提供能量支持。在斑马鱼的运动系统中,线粒体作为运动能量的来源,其形态和功能的改变决定着机体行为的异常。有研究表明,当多巴胺能神经元内大量线粒体出现水肿肥大现象,或者异常聚集的线粒体导致氧化应激反应时,均可导致机体行为异常^[38-40]。

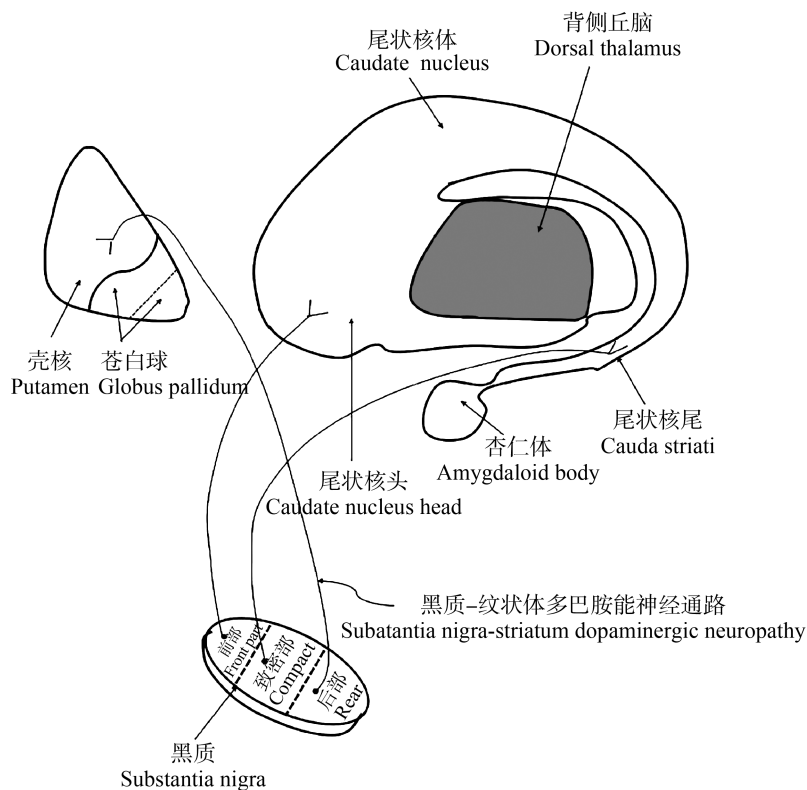


图 1 黑质-纹状体多巴胺能神经通路示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the substantia nigra-striatum dopaminergic pathway

运动系统是机体发生行为、进行生长发育活动的基础。斑马鱼的产卵、觅食等活动都依赖于运动系统的正常运行。此外,斑马鱼行为的发生与其体内多个系统密切相关,且其作为毒性终点的指标(如游泳速度、距离等)更为直观和具有代表性。因此,斑马鱼的运动行为表现被广泛地用于评价环境污染物对于水体环境以及水生生物的毒性效应。

2 无机污染物对斑马鱼运动行为的影响 (Effects of inorganic pollutants on the motility of zebrafish)

2.1 无机非金属化合物对斑马鱼运动行为的影响

环境中的无机污染物来源于人类生产活动的排放或自然界的自主形成,对生物体的生长发育构成一定威胁。李旭玲等^[41]将斑马鱼暴露于不同浓度的纳米二氧化硅($\text{SiO}_2\text{-NPs}$)后发现,600 和 1 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{SiO}_2\text{-NPs}$ 可致使斑马鱼游动行为发生变化,其游动速度在暴露 6 h 后的降幅达到 30% ~ 50%,游动高度在暴露后的 19 h 后出现迅速下降的现象,且在 24 h 后降幅达到 90%;除此之外,斑马鱼的群体行为也发生变化,个体间的平均距离以及分散程度在暴露 $\text{SiO}_2\text{-NPs}$ 24 h 后显著下降。Xue 等^[42]也进行了类似的研究并且得到了 $\text{SiO}_2\text{-NPs}$ 损害斑马鱼运动神经的结论。

2.2 纳米材料对斑马鱼运动行为的影响

随着科技的迅猛发展,纳米材料的应用越发广泛。而纳米材料对生物体同样存在着潜在的高毒性。贺凯宏等^[43]的研究表明,25、50 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的纳米氧化铝对 6 hpf(hours post fertilization)的斑马鱼胚胎染毒至 6 dpf(days post fertilization)后,其在黑暗状态下的游泳速度、运动距离以及趋触性程度均有明显下降;在惊恐逃逸反射试验中,发现光照 1 min 内的斑马鱼运动速度均低于黑暗时期,在关闭光源后幼鱼运动速度均会提升,但 25 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度组的幼鱼速度上升得更慢。

2.3 金属离子对斑马鱼运动行为的影响

2.3.1 铜(Cu)

在亚致死剂量的 Cu^{2+} 胁迫下,斑马鱼的游动速度、群体分布特征以及游动姿态等会发生显著变化。王英才等^[44]的研究表明,在 Cu^{2+} 作用下,短期内斑马鱼的游动速度、活动距离、群体平均间距和紧凑度以及平均短轴、长轴的长度均出现快速增加,在不同区域出现的概率差异减小;随着 Cu^{2+} 暴露时间的延长,其游动速度、距离等又出现快速下降,在不同区

域出现的概率又重新分化。伴随着 Cu^{2+} 的继续暴露,斑马鱼所受的毒害作用也进一步加深,其运动能力也进一步下降,表现为其各项行为指标的变幅收窄。除此之外,Cu 的暴露还会引起斑马鱼侧线毛细细胞的损伤,导致其体内出现氧化应激现象,进而损害斑马鱼的运动行为感知能力^[45-46]。

2.3.2 镉(Cd)

Cd 作为一种常见的重金属离子污染源,其在斑马鱼体内的富集会造造成神经系统的损伤,进而对斑马鱼的运动系统产生一定影响。Jin 等^[47]发现斑马鱼的行为模式对于光暗条件的交替存在某种响应关系,而经过 Cd 处理后的斑马鱼对于这种光暗交替刺激的反应效果变得微乎其微甚至消失,斑马鱼总体的运动行为能力下降,且在黑暗条件下游动速度和距离远远低于对照组。Pan 等^[48]也进行了类似的研究,发现斑马鱼的游动能力与 Cd 的浓度呈现梯度响应趋势,在最高浓度处理组(0.2 TU)其游动距离达到最低;同时发现 Cd 还会导致乙酰胆碱酯酶(AChE)的活性下降。AChE 是生物体中对神经递质起调节作用的关键酶之一,并且长期以来被认为在中枢神经系统的许多功能中起关键作用,其中就包括运动系统^[49]。

2.3.3 铝(Al)

金属 Al 已经频繁应用于人类的日常生活中。当其以 Al^{3+} 的形态游离于水环境中并在生物体内富集后,会在一定程度上干扰生物体内各项生理活动。有数据表明,当 $>100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Al^{3+} 染毒斑马鱼之后,其触摸逃逸反应(touch-escape reaction)次数显著减少,总游动距离和平均速度也明显下降;同时还发现光照条件下的恐慌逃逸反射(panic escape reflex)要明显高于黑暗条件下;在 $>400 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Al^{3+} 作用下,黑暗条件下的斑马鱼游动速度显著增加^[50]。谈勇等^[51]研究了 Al 引起斑马鱼运动行为变化的相应机制,其研究表明,经 Al^{3+} 暴露后的斑马鱼体内活性氧(ROS)水平上升,淀粉样前体蛋白 b(appb)mRNA 表达显著上调,胶质细胞原纤维酸性蛋白(gfap)mRNA 和生长相关蛋白 43(gap43)mRNA 表达下调;早老素 1(psen1)mRNA 则在暴露于 Al^{3+} 48 h 后出现下调现象,随着暴露的进行,其表达量又显著增加。猜测 Al 暴露导致的斑马鱼行为的变化可能与体内 ROS 水平上升以及上述基因表达的变化有关。

2.3.4 锰(Mn)

Mn 是生物体内必需的微量元素,也是鱼类进

行生理反应所必需的元素。高浓度的 Mn 可导致水环境的破坏并威胁水生生物的生长发育。有研究发现,将成年斑马鱼和幼年斑马鱼分别暴露于不同浓度的 Mn^{2+} 中,其结果表现为:成年斑马鱼的游动距离和转体角度均明显减小,而幼年斑马鱼群体中静止不动的个体数量增加;成鱼脑部中的酪氨酸羟化酶(TH)水平以及 3,4-二羟基苯乙酸(DOPAC)含量上升,幼鱼脑部中的 TH 水平则呈现下降趋势。且在成鱼和幼鱼的神经系统中均出现大量的细胞凋亡现象。表明斑马鱼运动能力的受损可能与高浓度的 Mn^{2+} 引起中枢神经系统的损伤,尤其与多巴胺能系统的损伤相关^[52]。

2.3.5 镍(Ni)

微量的 Ni 元素为鱼类所必需,但是 Ni 元素在体内的过量累积则会引发毒性作用,对于斑马鱼的运动系统也不例外。Nabinger 等^[53]发现对斑马鱼胚胎进行 Ni^{2+} 处理至 11 dpf 后,斑马鱼幼鱼的游动速度和游动距离在低浓度处理组($0.025\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)均明显下降,而在高浓度组($5、15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)则上升;而当受试对象换成成年斑马鱼时,所有 Ni 处理组的斑马鱼均出现类焦虑行为(anxiogenic-like behavior)和攻击性行为减少的现象。

2.3.6 其他

此外,亚致死剂量的汞(Hg)导致斑马鱼游动频率下降,恐慌逃逸反应减少^[54]。铅(Pb)的暴露致使斑马鱼游动距离缩短且转体角度减小^[55]。

3 有机物对斑马鱼运动行为的影响(Effects of organic matter on the motility of zebrafish)

3.1 苯、酚类化合物

大量的苯类及酚类化合物应用于各类生活用品中,其在生物体内的聚集量到达一定程度时会引发致癌效应,损害机体功能。大量资料显示,以斑马鱼作为受试对象暴露于各种苯、酚类化合物时,其行为模式发生变化,运动神经系统受到损伤。刘在平^[56]发现,在氯苯和间甲酚的作用下,斑马鱼仔鱼在 20 s 内的自主运动频率减少且游动距离大幅度下降。倪芳等^[57]将斑马鱼暴露于不同浓度的五氯酚(PCP)后发现,低浓度组($0.25、0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)斑马鱼游动速度(中值)和熵值呈递减趋势,但趋势不明显,斑马鱼浮出水面的频率增加;较高浓度组($1.0、2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的游动速度(中值)、熵值以及浮出水面频率有 10 min 的急速上升而后降低;而高浓度组($4.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的所有指标均呈显著下降趋势。Xia 等^[58]的研究表明,

壬基酚抑制了斑马鱼的活动并且减少了个体间攻击事件的发生。类似的研究中还发现斑马鱼的运动行为变化与苯酚的浓度以及染毒时间呈现相关性^[59]。双酚 A(BPA)作为一种常见的工业原料,也是食品包装和添加剂的典型成分。Wang 等^[60]的研究表明,BPA 的暴露显著改变了斑马鱼的自发运动,降低了触摸反射和游泳速度;此外, $1\sim 15\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 BPA 会导致斑马鱼轴肌损伤且在 $15\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,初级和次级运动神经元的轴突生长被破坏。

3.2 氰化物

氰化物可由一些特定的细菌、真菌或是藻类制造,并且存在于相当多的植物中。由于其在自然界中广泛存在性且毒性高,氰化物对生物体的生存环境构成极大威胁。郭樱子等^[61]将斑马鱼胚胎暴露于氯氟氰菊酯后,发现低浓度($2.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)时仔鱼的自主运动频率相较于对照组显著升高,高浓度($10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)组则显著下降;在高浓度组还发现斑马鱼仔鱼的接触反应的运动距离明显缩短,其游泳速度也显著降低。

3.3 农药及抑菌剂对斑马鱼运动行为的影响

3.3.1 有机磷农药

我国是农产品输出大国,对于农药以及抑菌剂的使用十分频繁,这也导致了环境中存在大量农药及抑菌剂的残留。大量文献报道了这些残留物对生物体的危害作用,其中也有许多研究针对斑马鱼的行为变化和运动神经的损伤进行了系统分析。逮南南等^[62]使用马拉硫磷对斑马鱼进行急性暴露后发现,短时间内斑马鱼的游动速度持续上升,最快速度达到 $65\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$,之后又急速下降,且斑马鱼的游动区域几乎全部集中于水箱上部。Wang 等^[63]将斑马鱼暴露于不同浓度的敌敌畏之后发现,在 $45\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组斑马鱼横向游动的时间减少,在 34 和 $45\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组进行垂直上下游动的斑马鱼数量增多;除此之外,各处理组均出现大部分斑马鱼聚集在水箱顶部靠近水面的现象。除了对于游动速度及活动区域的抑制之外,敌敌畏对于斑马鱼运动行为中的其他代表性指标均有不同程度的影响。黄毅等^[64]的研究结果表明,暴露于敌敌畏之后的斑马鱼出现聚集现象且转动频率下降,运动加速度减小,游泳活动减少且停留在水面附近。毒死蜱(chlorpyrifos, CPF)也是一种常见的农药杀虫剂。Levin 等^[65]对于孵化期的斑马鱼胚胎进行 CPF 暴露后发现孵化后的斑马鱼仔鱼游泳速度显著降低,甚至静止不动。而 Bailey

等^[66]则使用成年斑马鱼进行 CPF 暴露,探究 CPF 对斑马鱼游动速度、实时运动轨迹以及社交情绪效应(social-emotional effects)的影响。其研究结果表明,暴露于 CPF 的初期,斑马鱼游泳速度加快,运动剧烈,呈现兴奋状态;当暴露持续一段时间后,斑马鱼游泳速度降低,活动区域缩小,在最高浓度($0.6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)时抑制现象最显著^[66]。CPF 还导致成年斑马鱼的求偶“追尾”频率显著下降^[66]。

3.3.2 有机氯农药

双对氯苯基三氯乙烷(DDT)是常用的杀虫剂,也是一种不易分解的有机农药。Tiedeken 等^[67]将斑马鱼胚胎暴露于 DDT 中发现斑马鱼行为紊乱,活动能力受到抑制;为了进一步验证 DDT 对斑马鱼运动行为的干扰,在后续的实验加入了诱导癫痫发作的药物戊四唑和软骨藻酸,发现 DDT 的存在促进了这些药物诱发癫痫的概率,斑马鱼出现颤抖及摇头行为(head-shaking behavior)。Ton 等^[68]通过对抗乙酰化微管蛋白进行染色,也得到了 DDT 损伤斑马鱼运动神经元的结论。

3.3.3 抑菌剂

与农药一样,抑菌剂在生产生活中的使用也越来越频繁。而环境中残留的抑菌剂对生物体一样有着严重的健康威胁。已有研究表明,将斑马鱼暴露于百菌清之后,其综合行为强度受到严重影响。在 0.1 TU 百菌清暴露环境下的斑马鱼,其游动、摄食、摆动以及摆鳍均受到不同程度的影响,这 4 种运动行为受影响的程度为摆鳍>摄食>游动>摆动;而百菌清对斑马鱼运动神经的毒性机制可能是影响了其脑中酪氨酸转氨酶(TAT)的表达过程,从而影响机体的糖代谢水平,进而造成鱼体内三磷酸腺苷(ATP)水平降低,运动活力减弱^[69]。Jin 等^[70]将斑马鱼暴露于杀菌剂抑霉唑(IMZ)之后发现,经 $300 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 IMZ 处理 96 h 后的幼鱼平均游泳速度以及游泳距离显著降低,AChE 表达受到抑制。Altenhofen 等^[71]分别用斑马鱼仔鱼和成年斑马鱼暴露于三唑类杀菌剂戊唑醇,发现 $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组斑马鱼幼鱼的行进距离、行进时的转体角度、幼鱼间行进轨迹的交叉频率以及活动区域范围均有所减少;而对于成鱼组,4 和 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的戊唑醇处理组出现游泳速度和行进距离下降的现象;而对于 AChE 的表达情况,在成鱼组没有出现显著变化,但是幼鱼组的 AChE mRNA 表达量显著上升。

4 混合污染废水对斑马鱼运动行为的影响 (Effect of mixed pollution wastewater on zebrafish movement behavior)

城市污水或工业废水中污染物种类繁多,对生物体具有复杂性毒物暴露损害效应。Babić 等^[72]将斑马鱼胚胎暴露于污水处理厂废水样品之后发现,48 hpf 胚胎的出现肌肉组织受损、脊柱弯曲以及眼部发育迟缓等现象;随着暴露的进行,孵化后的仔鱼自主运动能力显著降低。潘睿捷等^[73]将斑马鱼分别暴露于浓缩的饮用水厂的进厂水、出厂水和管网水后发现,进厂水幼鱼的运动行为发生了明显的变化,且在高浓度(20 倍浓缩)组运动距离显著下降,同时转向运动也出现明显的异常;出厂水及管网水处理组的幼鱼运动行为没有受到显著的影响。Pohl 等^[74]将斑马鱼暴露于臭氧化的污水处理厂废水之后发现,相较于非臭氧化污水以及自来水处理组,臭氧化污水处理组的斑马鱼转移至无毒培养液后第 1 分钟之内的游泳活动更少。

5 总结与展望 (Summary and outlook)

随着生产生活的进行,污染物排放到环境中的种类和数量日益增多。各类环境污染物对斑马鱼的行为模式及运动神经系统有着不同程度的干扰。通过归纳分析可见,污染物暴露于斑马鱼之后对其运动能力有明显的抑制作用,包括抑制其游动速度、游动距离、活动范围以及转体的角度、频率等。如亚致死剂量的金属离子污染物暴露初期通常会短暂地刺激斑马鱼加快其游泳速度,行为剧烈且轨迹紊乱,原因可能是外界的短期刺激造成斑马鱼兴奋;当暴露持续进行或是污染物浓度增加后,对其运动能力的抑制作用越发明显,且一般呈现浓度或时间响应趋势,其原因则可能是金属离子进入到斑马鱼体内影响了其多巴胺神经的正常分泌以及与多巴胺受体的正常结合。而有机污染物在导致斑马鱼游泳能力下降的同时,其摄食或者求偶行为也受到不同程度的影响,原因可能是有机污染物损害了斑马鱼的供能系统与生殖系统,影响代谢功能,导致鱼 ATP 水平下降以及性激素含量改变。此外,环境污染物对于不同发育阶段的斑马鱼的行为能力的影响程度也有差异。对于孵化初期的斑马鱼仔鱼而言,其运动系统尚未发育完全且体内的解毒体系也较为薄弱,对于外界毒物的干扰所呈现出的受损效应也更为严重。如一些毒性较大的重金属离子或者有机农药等暴露后,斑马鱼仔鱼的游动速度显著下降甚至

静止,失去运动能力,甚至死亡;而成年斑马鱼的运动能力虽然也会受损,但多数只是速度下降,转体次数降低等,并未完全失去运动能力。可见污染物对不同发育时期的斑马鱼表现出不同程度的损伤效果。

针对环境污染物对于斑马鱼运动行为的损伤,国内外虽有大量研究报道,但大部分局限于对行为受损的表征研究,对于其受损的内在致毒机制尚没有系统的概述。生物学领域对斑马鱼的运动系统组成及调控机理已有较为成熟的研究,基于前人的研究,毒理学领域可以以下几个方向进行深入探讨:(1)环境污染物如何干扰斑马鱼调控运动行为的信号通路从而影响其运动行为;(2)环境污染物如何引起斑马鱼体内自由基的含量异常进而导致多巴胺能神经元坏死,从而抑制斑马鱼的运动;(3)环境污染物如何抑制胞内线粒体的合成或者损害线粒体结构,从而抑制斑马鱼运动所需的能量合成。由于环境污染物的广泛存在性及危害性,其对于运动神经系统的毒性作用研究也变得至关重要,而关于损害运动系统的具体作用机制还需要更加深入的研究。

通讯作者简介:薛永来(1981—),男,博士,副教授,主要研究方向为环境毒理学。

参考文献 (References):

- [1] Puls I, Jonnakuty C, Lamonte B H, et al. Mutant dynactin in motor neuron disease [J]. *Nature Genetics*, 2003, 33(4): 455-456
- [2] 任宗明,李志良,饶凯锋,等. 氰戊菊酯和氯化镉暴露下日本青鳉的行为反应差异[J]. *生态毒理学报*, 2008, 3(6): 563-569
Ren Z M, Li Z L, Rao K F, et al. The differences of the behavioral responses of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) in the exposure of fenvalerate and cadmium chloride [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2008, 3(6): 563-569 (in Chinese)
- [3] 张融,郑宏远,李录,等. 一种计量青鳉鱼胸鳍和尾鳍摆动频率和幅值的计算机视觉算法[J]. *生态毒理学报*, 2015, 10(4): 154-161
Zhang R, Zheng H Y, Li L, et al. A computer vision algorithm which was used for measuring the oscillation frequency of the Japanese medaka's pectoral fin and caudal fin [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2015, 10(4): 154-161 (in Chinese)
- [4] Wang D, Xing X. Assessment of locomotion behavioral defects induced by acute toxicity from heavy metal exposure in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, 20(9): 1132-1137
- [5] Nwani C D, Ivoke N, Ugwu D O, et al. Investigation on acute toxicity and behavioral changes in a freshwater African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), exposed to organophosphorous pesticide, termifos [J]. *Pakistan Journal of Zoology*, 2013, 45(4): 959-965
- [6] Coryslechte D A, Thompson T. Behavioral toxicity of chronic postweaning lead exposure in the rat [J]. *Toxicology & Applied Pharmacology*, 1979, 47(1): 151-159
- [7] Rice N C, Rauscher N A, Langston J L, et al. Behavioral toxicity of sodium cyanide following oral ingestion in rats: Dose-dependent onset, severity, survival, and recovery [J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2018, 114: 145-154
- [8] Sommers F, Mudrock E, Labenia J, et al. Effects of salinity on olfactory toxicity and behavioral responses of juvenile salmonids from copper [J]. *Aquatic Toxicology*, 2016, 175: 260-268
- [9] 高小辉,杨峰峰,何圣兵. 水质的生物毒性检测方法[J]. *净水技术*, 2012, 31(4): 49-54
Gao X H, Yang F F, He S B. Testing methods of biological toxicity detection for water quality [J]. *Water Purification Technology*, 2012, 31(4): 49-54 (in Chinese)
- [10] Ensebach U, Nagel R. Toxicity of complex chemical mixtures: Acute and long-term effects on different life stage of zebrafish [J]. *Ecotoxicological and Environmental Safety*, 1995, 30(2): 151-157
- [11] 景欣悦,康维钧,张宏伟. 环境污染物的生物测试方法[J]. *国外医学:卫生学分册*, 2005, 32(3): 167-170
Jing X Y, Kang W J, Zhang H W. Biological test method for environmental pollutants [J]. *Foreign Medical Sciences: Section of Hygiene*, 2005, 32(3): 167-170 (in Chinese)
- [12] Barcellos H H A, Koakoski G, Chaulet F, et al. The effects of auditory enrichment on zebrafish behavior and physiology [J]. *PeerJ*, 2018, 6(1): e5162
- [13] Fraser T W K, Khezri A, Lewandowska-Sabat A M, et al. Endocrine disruptors affect larval zebrafish behavior: Testing potential mechanisms and comparisons of behavioral sensitivity to alternative biomarkers [J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 193: 128-135
- [14] Antonia T, Aleka T, Michail P. Acute exposure to fluoxetine alters aggressive behavior of zebrafish and expression of genes involved in serotonergic system regulation [J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2017, 11: 223
- [15] Velki M, Paolo C D, Nelles J, et al. Diuron and diazinon alter the behavior of zebrafish embryos and larvae in the absence of acute toxicity [J]. *Chemosphere*, 2017, 180: 65-76

- [16] Pieróg M, Guz L, Doboszevska U, et al. Effects of alprazolam treatment on anxiety-like behavior induced by color stimulation in adult zebrafish [J]. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2018, 82: 297-306
- [17] Israr M, Sahi S V, Jain J. Cadmium accumulation and antioxidant response in the *Sesbania drummondii* Callus [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2006, 50(1): 121-127
- [18] Chen J, Tian L, Lei L, et al. Development and behavior alterations in zebrafish embryonically exposed to valproic acid (VPA): Animal model of autism [J]. *Neurotoxicology & Teratology*, 2018, 66: 8-16
- [19] Liu J, Sun L, Zhang H, et al. Response mechanisms to joint exposure of triclosan and its chlorinated derivatives on zebrafish (*Danio rerio*) behavior [J]. *Chemosphere*, 2018, 193: 820-832
- [20] Haesemeyer M, Robson D N, Li J M, et al. A Brain-wide circuit model of heat-evoked swimming behavior in larval zebrafish [J]. *Neuron*, 2018, 98(4): 817-831
- [21] Du Y, Guo Q, Shan M, et al. Spatial and temporal distribution of dopaminergic neurons during development in zebrafish [J]. *Frontiers in Neuroanatomy*, 2016, 10: 115-120
- [22] Rink E, Wullmann M F. Connections of the ventral telencephalon and tyrosine hydroxylase distribution in the zebrafish brain (*Danio rerio*) lead to identification of an ascending dopaminergic system in a teleost [J]. *Brain Research Bulletin*, 2002, 57(3-4): 385-397
- [23] Rink E, Wullmann M F. The teleostean (zebrafish) dopaminergic system ascending to the subpallium (striatum) is located in the basal diencephalon (posterior tuberculum) [J]. *Brain Research*, 2001, 889(1-2): 316-330
- [24] Yao L, Peng S X, Xu Y D, et al. Unexpected neuroprotective effects of loganin on 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurotoxicity and cell death in zebrafish [J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2017, 118(3): 615-628
- [25] 李伟. 多巴胺及其受体的研究现状[J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2011, 11(1): 104-106
Li W. The research status of dopamine and its receptor ligands[J]. *Chinese Journal of Contemporary Neurology and Neurosurgery*, 2011, 11(1): 104-106 (in Chinese)
- [26] 万鹏, 金清华. 多巴胺及其受体在中枢神经系统的作用研究进展[J]. *武汉大学学报*, 2017, 38(1): 169-172
Wan P, Jin Q H. Advances in research on the role of dopamine and its receptors in the central nervous system [J]. *Journal of Wuhan University*, 2017, 38(1): 169-172 (in Chinese)
- [27] 熊龙滨, 温冬香, 柏家祥, 等. 多巴胺及其受体对骨代谢的影响[J]. *现代医学与健康研究电子杂志*, 2018, 2(20): 188-190
Xiong L B, Wen D X, Bai J X, et al. Effects of dopamine and its receptors on bone metabolism [J]. *Modern Medicine and Health Research*, 2018, 2(20): 188-190 (in Chinese)
- [28] 王炳蔚, 杨晓宁, 张辰雨, 等. 纹状体神经通路及运动调控[J]. *生理科学进展*, 2016, 47(4): 241-248
Wang B W, Yang X N, Zhang C Y, et al. Movement control of striatum neural pathway [J]. *Progress in Physiological Sciences*, 2016, 47(4): 241-248 (in Chinese)
- [29] 邓红兵, 张开镐, 郑继旺. 中脑-边缘多巴胺系统在奖赏效应中的作用[J]. *中国药物依赖性杂志*, 1994(2): 70-73
Deng H B, Zhang K G, Zheng J W. The role of the mid-brain-edge dopamine system in the reward effect [J]. *Chinese Journal of Drug Dependence*, 1994(2): 70-73 (in Chinese)
- [30] Blesa J, Trigo-Damas I, Quiroga-Varela A, et al. Oxidative stress and Parkinson's disease [J]. *Frontiers in Neuroanatomy*, 2015, 9: 85-91
- [31] Beck M A. Selenium and host defence towards viruses [J]. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1999, 58(3): 707-711
- [32] Moscovitz O, Ben-Nissan G, Fainer I, et al. The Parkinson's-associated protein DJ-1 regulates the 20S proteasome [J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 6609-6621
- [33] Barcia C, Barreiro A F, Poza M, et al. Parkinson's disease and inflammatory changes [J]. *Neurotoxicity Research*, 2003, 5(6): 411-417
- [34] Doorn K J, Goudriaan A, Blits-Huizinga C, et al. Increased amoeboid microglial density in the olfactory bulb of Parkinson's and Alzheimer's patients [J]. *Brain Pathology*, 2013, 24(2): 152-165
- [35] Zhang H, Duan C, Yang H, et al. Defective autophagy in Parkinson's disease: Lessons from genetics [J]. *Molecular Neurobiology*, 2015, 51(1): 89-104
- [36] Hu H I, Chang H H, Sun D S. Differential regulation of caspase-2 in MPP+-induced apoptosis in primary cortical neurons [J]. *Experimental Cell Research*, 2015, 332(1): 60-66
- [37] Jing H R, Wang S X, Wang M, et al. Isobavachalcone attenuates MPTP-induced Parkinson's disease in mice by inhibition of microglial activation through NF- κ B pathway [J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0169560
- [38] Twig G, Elorza A, Molina A J A, et al. Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination

- tion by autophagy [J]. The EMBO Journal, 2008, 27(2): 433-446
- [39] Twig G, Hyde B, Shirihai O S. Mitochondrial fusion, fission and autophagy as a quality control axis: The bioenergetic view [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Bioenergetics, 2008, 1777(9): 1092-1097
- [40] Baluchnejadmojarad T, Rabiee N, Zabihnejad S, et al. Elagic acid exerts protective effect in intrastriatal 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease: Possible involvement of ER β /Nrf2/HO-1 signaling [J]. Brain Research, 2017, 1662: 23-30
- [41] 李旭玲, 吴德生, 洪文旭, 等. 纳米 SiO₂ 颗粒对斑马鱼行为变化的影响[J]. 癌变·畸变·突变, 2015, 27(6): 467-471
- Li X L, Wu D S, Hong W X, et al. Effects of nano-SiO₂ particles on zebrafish behavior response [J]. Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis, 2015, 27(6): 467-471 (in Chinese)
- [42] Xue J Y, Li X, Sun M Z, et al. An assessment of the impact of SiO₂ nanoparticles of different sizes on the rest/wake behavior and the developmental profile of zebrafish larvae [J]. Small, 2014, 9(18): 3161-3168
- [43] 贺凯宏, 尚楠, 陈建平, 等. 纳米氧化铝对斑马鱼幼鱼早期运动行为的影响[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(3): 181-187
- He K H, Shang N, Chen J P, et al. Effects of nano-alumina on motor behaviors of zebrafish larva [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(3): 181-187 (in Chinese)
- [44] 王英才, 王树磊, 唐剑锋, 等. 斑马鱼在 Cu²⁺ 胁迫下运动行为变化研究及其应用[J]. 人民长江, 2018, 49(21): 24-30
- Wang Y C, Wang S L, Tang J F, et al. Study on behavioral variation of zebrafish under stress of Cu²⁺ and its application on water monitoring and early alarming [J]. Yangtze River, 2018, 49(21): 24-30 (in Chinese)
- [45] Olivari F A, Hernández P P, Allende M L. Acute copper exposure induces oxidative stress and cell death in lateral line hair cells of zebrafish larvae [J]. Brain Research, 2009, 1244(4): 1-12
- [46] Mcneil P L, Boyle D, Henry T B, et al. Effects of metal nanoparticles on the lateral line system and behaviour in early life stages of zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Aquatic Toxicology, 2014, 152: 318-323
- [47] Jin Y, Liu Z, Liu F, et al. Embryonic exposure to cadmium (II) and chromium (VI) induce behavioral alterations, oxidative stress and immunotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Neurotoxicology and Teratology, 2015, 48: 9-17
- [48] Pan H, Zhang X, Ren B, et al. Toxic assessment of cadmium based on online swimming behavior and the continuous AChE activity in the gill of zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Water, Air & Soil Pollution, 2017, 228(9): 355-365
- [49] Silva A S D, Spanevello R, Stefanello N, et al. Influence of *Trypanosoma evansi* in blood, plasma, and brain cholinesterase of experimentally infected cats [J]. Research in Veterinary Science, 2009, 88(2): 281-284
- [50] Chen J P, Shang N, He K H, et al. Influence of aluminum chloride exposure on embryonic development of zebrafish and neurobehavior of juvenile fish [J]. Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases, 2017, 35(3): 166-178
- [51] 谈勇, 许梦川, 王远, 等. 铝对斑马鱼幼鱼运动行为的影响及其机制[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2018, 32(3): 208-214
- Tan Y, Xu M C, Wang Y, et al. Effect of aluminum on locomotor activity of zebrafish larvae and its mechanism [J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2018, 32(3): 208-214 (in Chinese)
- [52] Altenhofen S, Wiprich M T, Nery L R, et al. Manganese (II) chloride alters behavioral and neurochemical parameters in larvae and adult zebrafish [J]. Aquatic Toxicology, 2017, 182: 172-183
- [53] Nabinger D D, Altenhofen S, Bitencourt P E R, et al. Nickel exposure alters behavioral parameters in larval and adult zebrafish [J]. Science of the Total Environment, 2017, 624(1): 1623-1633
- [54] Noraini Abu Bakar, Nurul Syafida Asma' Mohd Sata, Nurul Farhana Ramlan, et al. Evaluation of the neurotoxic effects of chronic embryonic exposure with inorganic mercury on motor and anxiety-like responses in zebrafish (*Danio rerio*) larvae [J]. Neurotoxicology and Teratology, 2017, 59: 53-61
- [55] Wang Y, Shen C, Wang C, et al. Maternal and embryonic exposure to the water soluble fraction of crude oil or lead induces behavioral abnormalities in zebrafish (*Danio rerio*), and the mechanisms involved [J]. Chemosphere, 2018, 191: 7-16
- [56] 刘在平. 氯苯、间甲酚和城市污水斑马鱼胚胎和仔鱼生态毒性效应研究[D]. 兰州: 西北师范大学, 2011: 38
- Liu Z P. Ecological toxic effects of chlorobenzene, *m*-cresol and urban sewage on zebrafish embryos and larva [D]. Lanzhou: Northwest Normal University, 2011: 38 (in Chinese)
- [57] 倪芳, 周斯芸, 张瑛, 等. 不同浓度的五氯酚对斑马鱼运动行为的影响[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(5): 763-771
- Ni F, Zhou S Y, Zhang Y, et al. Concentration-dependent effect of PCP on swimming behavior of zebrafish [J]. A-

- sian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(5): 763-771 (in Chinese)
- [58] Xia J, Niu C, Pei X. Effects of chronic exposure to nonylphenol on locomotor activity and social behavior in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Journal of Environmental Sciences, 2010, 22(9): 1435-1440
- [59] 孙中训, 杜娟娟, 周绍辉, 等. 苯酚对斑马鱼的抗氧化酶活性及运动行为的影响[J]. 化学与生物工程, 2016, 33(12): 63-67
Sun Z X, Du J J, Zhou S H, et al. Effects of phenol on antioxidant enzyme activity and movement behavior of *Brachydanio rerio* [J]. Chemistry & Bioengineering, 2016, 33(12): 63-67 (in Chinese)
- [60] Wang X, Dong Q, Chen Y, et al. Bisphenol A affects axonal growth, musculature and motor behavior in developing zebrafish [J]. Aquatic Toxicology, 2013, 142-143(4): 104-113
- [61] 郭樱子, 栾亚楠, 周玉玲, 等. 低剂量氯氟氰菊酯对斑马鱼胚胎运动行为的影响[J]. 温州医科大学学报, 2016, 46(7): 476-481
Guo Y Z, Luan Y N, Zhou Y L, et al. Effect of low-dose cyhalothrin on motor behavior in zebrafish embryos [J]. Journal of Wenzhou Medical University, 2016, 46(7): 476-481 (in Chinese)
- [62] 逯南南, 宋武昌, 王明泉, 等. 马拉硫磷急性暴露对斑马鱼的行为毒性研究[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(4): 249-254
Lu N N, Song W C, Wang M Q, et al. Behavioral toxicity study of zebrafish under malathion acute exposure [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(4): 249-254 (in Chinese)
- [63] Wang Z, Pu Y Z, Chen Y J, et al. Influence of dichlorvos on zebrafish behavior [J]. Journal of International Pharmaceutical Research, 2013, 40(3): 327-330
- [64] 黄毅, 张金松, 韩小波, 等. 氯化镉和敌敌畏突发胁迫下斑马鱼的行为差异[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(6): 671-676
Huang Y, Zhang J S, Han X B, et al. Behavioral differences of zebrafish under sudden stress of dichlorvos and cadmium chloride [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2012, 7(6): 671-676 (in Chinese)
- [65] Levin E D, Swain H A, Donerly S, et al. Developmental chlorpyrifos effects on hatchling zebrafish swimming behavior [J]. Neurotoxicology and Teratology, 2004, 26(6): 719-723
- [66] Bailey J, Oliveri A, Levin E. Chlorpyrifos disrupts social behavior in adult zebrafish [J]. Neurotoxicology and Teratology, 2014, 43: 90-94
- [67] Tiedeken J A, Ramsdell J S. DDT Exposure of Zebrafish Embryos Enhances Seizure Susceptibility: Relationship to Fetal *p,p'*-DDE Burden and Domoic Acid Exposure of California Sea Lions [J]. Environmental Health Perspectives, 2009, 117(1): 68-73
- [68] Ton C, Lin Y, Willett C. Zebrafish as a model for developmental neurotoxicity testing [J]. Birth Defects Research, 2006, 76(7): 553-567
- [69] 逯南南, 李汝, 宋武昌, 等. 马拉硫磷和百菌清胁迫下斑马鱼行为变化的研究[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(1): 369-374
Lu N N, Li R, Song W C, et al. Study on behavioral change of zebrafish exposed to malathion and chlorothalonil [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(1): 369-374 (in Chinese)
- [70] Jin Y, Zhu Z, Wang Y, et al. The fungicide imazalil induces developmental abnormalities and alters locomotor activity during early developmental stages in zebrafish [J]. Chemosphere, 2016, 153: 455-461
- [71] Altenhofen S, Nabinger D D. Tebuconazole alters morphological, behavioral and neurochemical parameters in larvae and adult zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Chemosphere, 2017, 180: 483-490
- [72] Babić S, Barišić J, Višić H, et al. Embryotoxic and genotoxic effects of sewage effluents in zebrafish embryo using multiple endpoint testing [J]. Water Research, 2017, 115: 9-21
- [73] 潘睿捷, 黄文平, 张斌, 等. 斑马鱼幼鱼运动行为测试评价饮用水安全[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(4): 18-25
Pan J R, Huang W P, Zhang B, et al. Toxicity assessment of drinking water using zebrafish swimming behavior tests [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(4): 18-25 (in Chinese)
- [74] Pohl J, Björlenius B, Brodin T, et al. Effects of ozonated sewage effluent on reproduction and behavioral endpoints in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Aquatic Toxicology, 2018, 200: 93-101