

拟除虫菊酯类农药对斑马鱼幼鱼的神经毒性作用研究

李 颖¹, 王 霞², 朱盼盼³, 林 洪¹, 隋建新¹, 曹立民^{1*}

(1. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 青岛 266003; 2. 青岛科技大学海洋科学与生物工程学院, 青岛 266044; 3. 中国海洋大学海洋生物多样性与进化研究所, 青岛 266003)

摘 要: **目的** 探究 4 种拟除虫菊酯类农药(溴氰菊酯、丙烯菊酯、高效氯氰菊酯、顺式氰戊菊酯)对斑马鱼的神经毒性作用。**方法** 对 4 种农药采用静态暴露方法, 分析其在高、中、低 3 种剂量下对斑马鱼幼鱼的形态、神经行为的影响; 同时以活性氧(reactive oxygen, ROS)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AchE)为指标, 研究各农药在高中低剂量下对斑马鱼幼鱼神经化学的影响。**结果** 4 种拟除虫菊酯类农药均对斑马鱼幼鱼造成了体长变短、脊柱弯曲等形态变化; 除丙烯菊酯外, 其他 3 种农药均使斑马鱼幼鱼出现显著的运动活性降低趋势($P<0.05$); 在神经化学方面, 与空白组 and 对照组相比, 4 种农药均使斑马鱼幼鱼体内的 AchE 活性显著下降($P<0.05$); 但 4 种农药对 ROS 水平变化各有差异: 溴氰菊酯与高效氯氰菊酯对斑马鱼幼鱼的 ROS 水平影响无显著性差异, 而丙烯菊酯和顺式氰戊菊酯在高中剂量下均可导致斑马鱼幼鱼 ROS 水平显著增加。**结论** 拟除虫菊酯农药对斑马鱼幼鱼产生了显著的神经毒性作用, 首次发现形态变化和 AchE 活性的变化与大鼠相关结果体现出较好的一致性, 有望替代大鼠用于更加简便快捷的食品安全风险评估; 其余指标与大鼠呈现不同程度的差异, 可能与两者生物学特性的差别有关。本研究为斑马鱼在食品安全评价中的应用提供参考。

关键词: 拟除虫菊酯类农药; 斑马鱼; 神经毒性

Study on the neurotoxicity of pyrethroid pesticides on *Danio rerio* larval

LI Ying¹, WANG Xia², ZHU Pan-Pan³, LIN Hong¹, SUI Jian-Xin¹, CAO Li-Min^{1*}

(1. College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. College of Marine Science and Biological Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266044, China; 3. Institute of Marine Biodiversity and Evolution, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of 4 kinds of pyrethroid pesticides (deltamethrin, allethrin, high efficiency cypermethrin and esfenvalerate) on the neurotoxicity of *Danio rerio*. **Methods** The effects of the 4 kinds of pesticides on the morphology and neurobehavior of *Danio rerio* larvae were analyzed at 3 kinds of doses (high, medium and low), using a static exposure method; and the effects of reactive oxygen (ROS), superoxide dismutase (SOD), acetylcholinesterase (AchE) were used as indicators to study the neurochemical effects of each pesticide on

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD0901704)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2019YFD0901704)

*通信作者: 曹立民, 博士, 教授, 主要研究方向为水产品质量安全。E-mail: caolimin@ouc.edu.cn

*Corresponding author: CAO Li-Min, Ph.D, Professor, Ocean University of China, No.1299, Sansha Road, Huangdao District, Qingdao 266003, China. E-mail: caolimin@ouc.edu.cn

Danio rerio larvae at high, medium and low doses. **Results** All 4 kinds of pyrethroid pesticides caused morphological changes such as shorter body length and spine curvature in *Danio rerio* larvae; except for allethrin, the other 3 kinds of pesticides caused a significant decrease ($P<0.05$) in locomotor activity in *Danio rerio* larvae; in terms of neurochemistry, all 4 kinds of pesticides caused a significant decrease ($P<0.05$) in AchE activity in *Danio rerio* larvae with increasing concentration compared with the blank group and the control group. However, the 4 kinds of pesticides differed in their effects on ROS level: Deltamethrin and high efficiency cypermethrin did not have significant differences in their effects on ROS level in *Danio rerio* larvae, while allethrin and esfenvalerate both caused significant increases in ROS level in *Danio rerio* larvae at medium and high doses. **Conclusion** The pyrethroid pesticides produces significant neurotoxic effects on *Danio rerio* larvae. For the first time, morphological changes and changes in AchE activity are found to be in good agreement with those of rats, which is expected to replace rats for easier and faster food safety risk assessment; the remaining indicators shows different degrees of differences from rats, which may be related to the differences in their biological characteristics. This study provides a reference for the application of *Danio rerio* in food safety evaluation.

KEY WORDS: pyrethroid pesticides; *Danio rerio*; neurotoxicity

0 引 言

农药作为食品中主要的危害因子之一,大量的使用引起食品中农药残留超标,对食品安全以及人体健康造成潜在威胁^[1]。为了合理控制各种农药的危害,很多国家和地区都不断完善农药限量标准^[2-3]及安全性评价的标准或指南^[4]。拟除虫菊酯类农药由于具备遇光稳定、可降解等优势,是目前全球范围内应用最为广泛的农药种类之一^[5],但研究表明该类农药可能导致神经毒性、发育毒性、免疫系统毒性、心血管毒性及生殖毒性等负面影响^[6-8],如何更加准确、高效地对其进行危害表述,是合理管控其安全风险的前提和依据。由于哺乳动物实验暴露出成本高、实验周期长等弱点,因此如何借助一些新型的实验模型对拟除虫菊酯类农药进行毒性作用分析,成为今后重要的研发应用趋势。

斑马鱼(*Danio rerio*)就是衍生出的一种新型模式动物。斑马鱼不仅价格低廉、生长速度快、产卵量大,而且与人类基因组同源性高,达到 87%,有利于将其用于与人类健康相关的研究^[9-10];与传统的哺乳动物实验相比,基于斑马鱼的实验更加简便、经济、快捷;与常用的细胞评价技术相比,斑马鱼属于一个完整的动物模型,允许代谢和系统相互作用以模拟人类的生命过程^[11],更容易达到较高的准确性。目前,斑马鱼已广泛应用于环境生态学方面的毒性机制探究^[12-13],但在食品安全毒性方面研究甚少,主要原因在于斑马鱼与传统动物(大鼠、小鼠、兔)相比,毒理学表征指标的相关研究尚处于起步阶段^[14],尤其缺乏与传统动物数据之间的分析比较,因此近年来国内外也越来越重视研究斑马鱼毒性检测和传统类动物毒性检测结果的相关性^[15-17],以推动斑马鱼模型尽快成为替代传统动

物模型的毒性评价工具。

基于传统哺乳动物的实验表明,拟除虫菊酯类农药的神经毒性是其主要的毒性特征之一,其评价指标主要涵盖神经形态学、神经行为学、神经化学等方面^[18],其中神经化学又主要考察体内氧化应激水平变化,通常以活性氧(reactive oxygen, ROS)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)及乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AchE)活性等为指标^[19]。目前已有研究证实某些拟除虫菊酯类农药会对斑马鱼产生急性毒性和发育毒性,且已表明斑马鱼胚胎具有替代哺乳动物研究某些拟除虫菊酯类农药的发育毒性的潜力^[20]。而关于拟除虫菊酯类农药对斑马鱼的神经毒性,目前主要集中在对斑马鱼胚胎的神经毒性研究方面^[21-22],对于幼鱼和成鱼的研究较少,而根据欧盟动物保护法,出生 5 d 以内的斑马鱼胚胎和幼鱼均不属于动物,可用于替代哺乳动物测试,符合 3R(替代、减少、优化)原则^[23];与胚胎相比,3~5 d 的幼鱼已破膜,脱去绒毛膜后对很多药物更敏感^[24-25],且幼鱼具备完整的器官组织,更适合用于与人类相关的毒性作用研究与评价。同时,斑马鱼作为新型农药毒理学评价模型,以往研究主要着眼于农药对环境生态毒性的影响,在食品安全毒理学角度,缺乏与哺乳动物的神经毒性特征的分析对比,从而难以判断其用于替代传统动物实验的可行性。

基于以上问题,本研究以目前较为常用、且具有不同毒性特性的 4 种拟除虫菊酯类农药(溴氰菊酯、高效氯氰菊酯、顺式氰戊菊酯和丙烯菊酯),基于课题组前期急性毒性实验结果:溴氰菊酯对斑马鱼幼鱼的急性毒性半数致死浓度(lethal concentration of 50%, LC₅₀)值为 0.0938 mg/L;高效氯氰菊酯对斑马鱼幼鱼的急性毒性 LC₅₀ 值为 1.2480 mg/L;顺式氰戊菊酯对斑马鱼幼鱼的急性毒性 LC₅₀ 值为 1.5200 mg/L;丙烯菊酯对斑马鱼幼鱼

的急性毒性 LC_{50} 值为 3.0230 mg/L; 按照我国 GB/T 31270.12—2014《化学农药环境安全评价试验准则 第 12 部分: 鱼类急性毒性试验》农药对鱼的毒性等级划分, 根据 4 种农药对斑马鱼的 LC_{50} 值, 溴氰菊酯、高效氯氰菊酯和顺式氰戊菊酯为高毒性, 丙烯菊酯为低毒性, 本研究从形态、行为、神经化学角度研究该类农药对斑马鱼幼鱼的神经毒性的影响, 并与大鼠等哺乳动物的相关特征进行比较分析, 以便于筛选潜在的神经毒性评价指标, 为今后建立基于斑马鱼幼鱼的食品安全风险评估替代技术提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

溴氰菊酯、丙烯菊酯(纯度>98%, 上海阿拉丁试剂有限公司); 高效氯氰菊酯(纯度>97%)、顺式氰戊菊酯(纯度>96%)(广州佳途科技股份有限公司); 二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)(纯度>99.5%, 北京索莱宝科技有限公司); NaCl、KCl、 $CaCl_2$ 、 $MgSO_4$ (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered saline, PBS)(浓度为 0.01 mol/L, 武汉普诺赛生命科技有限公司); SOD 试剂盒、AchE 试剂盒、ROS 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所); 96 孔聚苯乙烯酶标板(美国 Costar 公司); 24 孔细胞培养板(无锡 NEST 生命科技股份有限公司)。

1.2 仪器与设备

BCE224-1CCN 电子天平[精度为 0.0001 g, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; MGC-150 光照智能培养箱(上海培因实验仪器有限公司); CF1524R 高速冷冻型微量离心机(北京兰杰柯科技有限公司); BX43F 荧光显微镜(日本奥林巴斯株式会社); 800TS 酶标仪(美国 BioTek 公司); 斑马鱼微视行为分析系统(Danio Scope)[诺达思(北京)信息技术有限责任公司]; QCL001 药物残留前处理装置(青岛谷峰实验仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 斑马鱼的饲养与繁育

野生 AB 型斑马鱼成鱼购自中国国家斑马鱼资源中心。饲养方法按照国家斑马鱼资源中心提供的方法进行: 雌雄分别在两个不同的水箱中养殖。光周期为光照 14 h 和黑暗 10 h。每天两次给斑马鱼喂食新鲜丰年虫, 配对前半小时不允许进食。

产卵盒外缸预先加入 2/3 的养殖水, 随后放入产卵隔离盒。于实验前一天晚上选取大于 3 个月的性成熟的待配种的斑马鱼成鱼, 按照 1:1 或 2:1 的雌雄比置于产卵隔离盒中过夜, 置于培养箱中, 温度调至 $(28\pm 0.5)^{\circ}C$, 避光。

次日早晨 9:00 之前打开光源, 调节光照强度 54~324 lux, 抽出产卵隔离盒的挡板, 使雌雄成鱼进行交配产卵。交配

30 min 后, 检查产卵情况, 用塑料滴管收集胚胎, 放入含 2/3 胚胎培养液的培养皿中, 每个培养皿胚胎数量不超过 50 枚。以塑料滴管移除培养皿中的异物后, 放入培养箱孵育 72 h, 温度调至 $(28\pm 0.5)^{\circ}C$, 按照 14 h 光照-10 h 黑暗设置光照周期, 给与光照时调节光照强度 54~324 lux。待幼鱼破膜, 即出生 3 d 时(days post-fertilization, dpf)用于后续实验。本研究中的所有动物实验方案都已得到中国海洋大学实验动物伦理委员会的批准。

1.3.2 农药对斑马鱼幼鱼的形态的影响

基于前期课题组已完成的各农药对斑马鱼幼鱼的急性毒性实验结果 LC_{50} 值, 按照农药对斑马鱼幼鱼的毒性效应, 对每种农药设置高中低 3 个浓度组。具体如下: 溴氰菊酯为 0.01、0.05、0.10 mg/L; 丙烯菊酯为 0.5、1.0、2.5 mg/L; 高效氯氰菊酯为 0.01、0.05、0.10 mg/L; 顺式氰戊菊酯为 0.10、0.25、0.50 mg/L。

将斑马鱼幼鱼分别暴露于 4 种农药的各浓度下, 48 h 后在荧光显微镜下观察形态变化。

1.3.3 斑马鱼幼鱼的行为分析

参照 SALAHINEJAD 等^[26]的方法, 按照 1.3.2 设置的各农药 3 个浓度组, 将斑马鱼幼鱼分别暴露于 4 种农药的各浓度下, 将斑马鱼幼鱼暴露在不同农药溶液 48 h 后, 在行为分析仪中实时跟踪 1 h 获取斑马鱼幼鱼的运动变化。

1.3.4 斑马鱼幼鱼的 ROS 的测定

样品前处理: 参照 ZHU 等^[27]文献并稍加修改, 将 24 条暴露 48 h 后的斑马鱼幼鱼制成匀浆。取 20 μ L 匀浆和 80 μ L PBS (pH 7.4)转移至 96 孔酶标板中, 然后添加 20 μ L/100 μ g/mL 二氯荧光素二乙酸酯(dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA)。空白样品以类似的方式制备, 但样品量用 PBS (pH 7.4)代替。样品用铝箔避光, 并在 $37^{\circ}C$ 下孵育 30 min。

活性测定: 在 485 nm 的激发波长下测量最小荧光值, 发射波长 530 nm, 利用荧光酶标仪检测。ROS 浓度标准化为蛋白质量, 并以任意单位(DCF/mgprot)表示。

1.3.5 斑马鱼幼鱼的 SOD 活性测定

样品前处理: 按照 1.3.2 设置的各农药 3 个浓度组, 24 条斑马鱼幼鱼(3 dpf), 经农药溶液暴露至 5 dpf 后的幼鱼, 利用 PBS (pH 7.4)对样品稀释, 剪碎组织, 冰水浴制备匀浆, $4^{\circ}C$ 条件下 $860\times g$ 离心 10 min, 取上清液冷冻保存, 备用。

活性测定: 按照南京建成生物工程研究所的试剂盒进行实验, 通过酶标仪测定吸光值, 利用试剂盒方法进行计算活力值。

1.3.6 斑马鱼幼鱼的 AchE 活性测定

样品前处理及活性测定: 均按照 1.3.5 方法进行。

1.3.7 数据处理

实验至少重复 3 次, 数据采用 GraphPad Prism 8、SPSS 24.0 软件进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 4 种农药对斑马鱼幼鱼形态特征的影响

如图 1 所示, 空白组与溶剂对照组(DMSO)相比, 斑马鱼幼鱼形态无明显变化。对于 4 种菊酯类农药处理组, 与空白和 DMSO 组相比均出现体长变短、脊柱弯曲现象, 且随着暴露浓度增加, 形态差异愈加显著。体长、体重、体型等形态变化一般认为是生物体产生神经毒性的重要特征, 如经济合作与发展组织(Organization for Economic Co-operation and Development, OECD) 426 指南^[28]中关于哺乳动物神经毒性的评价依据, 即包括体重异常; 柴晓静^[29]研究拟除虫菊酯类农药对大鼠的影响, 也表明溴氰菊酯等均使小鼠的体重增长变慢。与之非常类似, 斑马鱼对菊酯类药物的神经毒性效应, 同样体现出明显的、具有浓度梯度依赖的形态变化特征, 显示出较好的替代毒理学应用潜力, 而且体长和体型变化作为评价指标更加直观、简便。

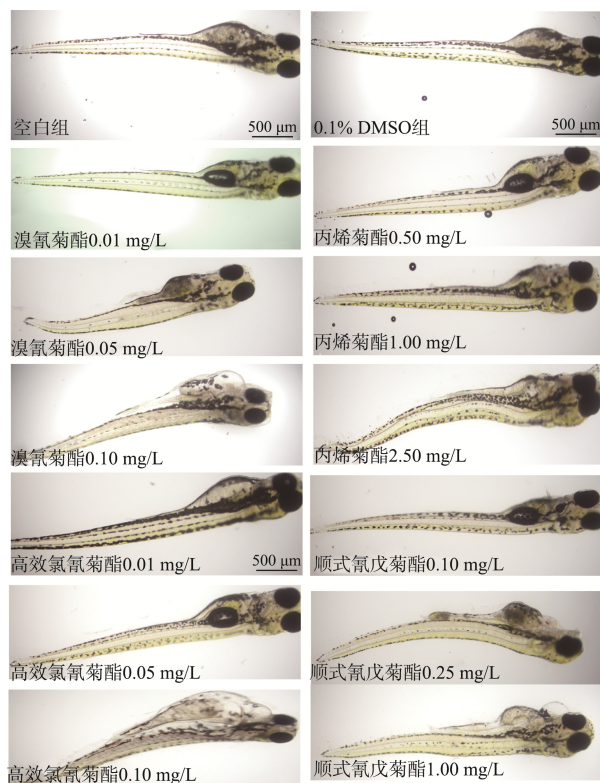


图 1 4 种农药对斑马鱼幼鱼形态表征的影响
Fig.1 Effects of 4 kinds of pesticides on morphological characterization of *Danio rerio* larvae

2.2 4 种农药对斑马鱼幼鱼行为的影响

我国 GB/T 27826—2011《化学品 神经发育毒性试验方法》和 OECD 相关规定中均将神经行为变化作为化学品神经毒性的重要表征依据, 具体指运动活性降低、震颤等一系列与身体位置、活动水平和动作协调有关的异

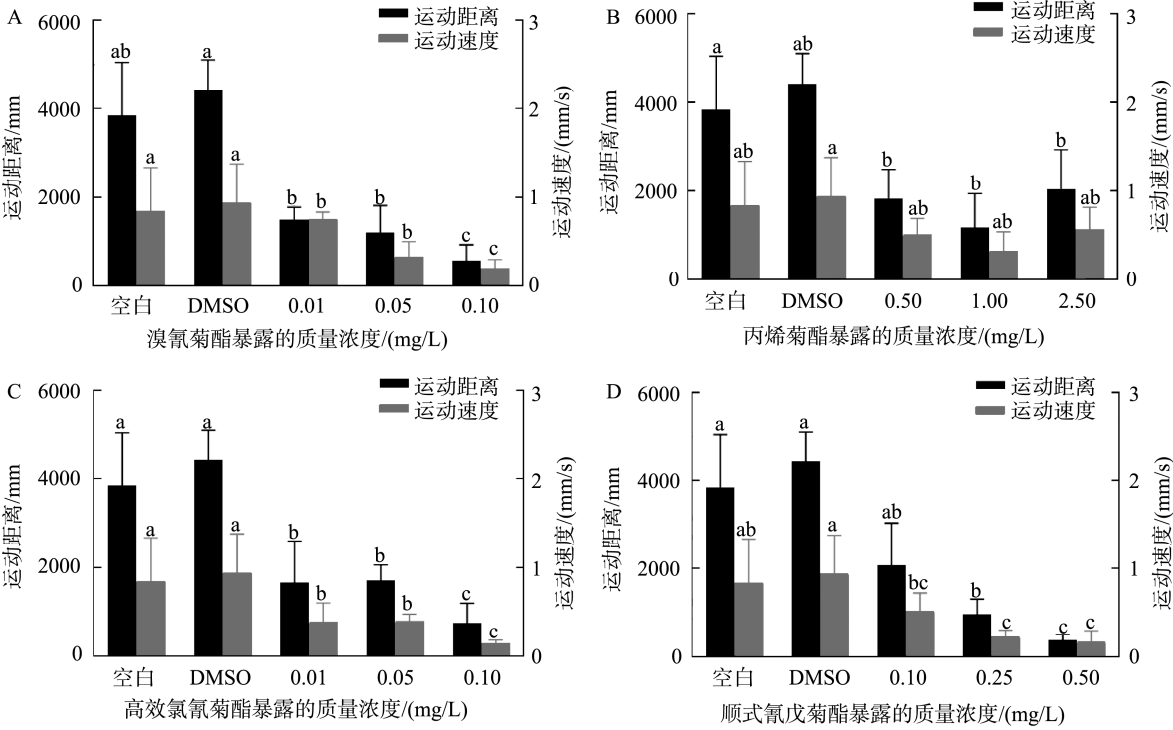
常反应^[18]。从图 2 的结果中可以看出相对于空白组和 DMSO 组, 溴氰菊酯、高效氯氰菊酯、顺式氰戊菊酯 3 组处理组的运动距离和运动速度均出现显著下降($P<0.05$); 而相对于 DMSO 组, 丙烯菊酯处理组运动距离和运动速度未发生显著变化。在大鼠体内, 研究表明拟除虫菊酯类农药对大鼠行为表现出前期短暂兴奋、然后持续抑制的作用特征^[29]。上述结果表明, 对于 3 种高毒性的菊酯类农药, 斑马鱼幼鱼显示出明显的运动行为变化, 且与大鼠呈现类似的规律; 而对于丙烯菊酯等毒性较低的药物, 其对于斑马鱼神经行为的影响程度较低, 具体的作用机制也存在差异, 在一定的暴露剂量和时间条件下可能无法体现出与其他药物同样的神经毒性特征。

2.3 4 种农药对斑马鱼幼鱼神经化学的影响

经过不同剂量的暴露后, 4 种药物对于斑马鱼幼鱼 ROS 水平的影响呈现出截然不同的趋势。溴氰菊酯和高效氯氰菊酯组 ROS 水平与空白组和 DMSO 组相比无显著性差异(图 3), 这与大鼠实验结果存在明显的不同, 有研究表明大鼠接触不同浓度(0~40 mg/kg 体重)溴氰菊酯会导致剂量依赖性神经毒性, 并伴有 ROS 水平升高^[30], 而小鼠灌胃高效氯氰菊酯后也出现 ROS 水平显著升高趋势。而中剂量、高剂量下的丙烯菊酯和顺式氰戊菊酯处理后 ROS 水平与空白组和 DMSO 组相比显著升高($P<0.05$), 与大鼠拟除虫菊酯类药物的实验结果呈现类似的趋势^[31-32]。

4 种农药对斑马鱼幼鱼 SOD 活性的影响也是不一致的(图 4), 与 DMSO 组相比, 溴氰菊酯处理组始终未显示显著差异, 丙烯菊酯在低、中剂量组即出现显著升高趋势并延续到高剂量组, 而高效氯氰菊酯和顺式氰戊菊酯处理组则只在高剂量组出现显著升高($P<0.05$)。上述结果表明, 不同农药对斑马鱼幼鱼体内 SOD 活性的影响程度和变化规律是不同的, 这与利用成鱼开展的相关研究结果是较为吻合的^[33]。而有研究表明^[34], 将大鼠暴露于拟除虫菊酯类农药后, SOD 活性呈浓度和时间依赖性下降($P<0.05$), 这与本研究中斑马鱼幼鱼体内 SOD 的变化趋势是截然不同, 甚至相反的。

4 种农药经不同浓度处理后, 斑马鱼幼鱼的 AchE 活性均出现明显的降低(图 5), 而且中、高剂量的影响程度均显著强于低剂量组($P<0.05$)。HOSSAIN 等^[35]对自由活动大鼠乙酰胆碱释放的微透析研究表明, 拟除虫菊酯影响大鼠海马中乙酰胆碱的释放; EL-DEMERDASH 等^[34]将大鼠暴露于拟除虫菊酯类农药后, AchE 活性呈浓度和时间依赖性下降($P<0.05$), 这与本研究的斑马鱼幼鱼体内 AchE 的变化趋势, 整体上是较为一致的。此外应注意到, 与高效氯氰菊酯和顺式氰戊菊酯不同, 溴氰菊酯和丙烯菊酯在高剂量组出现了 AchE 活性相较于中剂量组略微升高的现象, 说明不同菊酯对该酶活性的作用机制可能仍然存在一定差异。



注：不同小写字母表示组间具有显著性差异， $P < 0.05$ ，下同。

图 2 4 种农药对斑马鱼幼鱼运动距离和运动速度的影响

Fig.2 Effects of 4 kinds of pesticides on the movement distance and movement speed of *Danio rerio* larvae

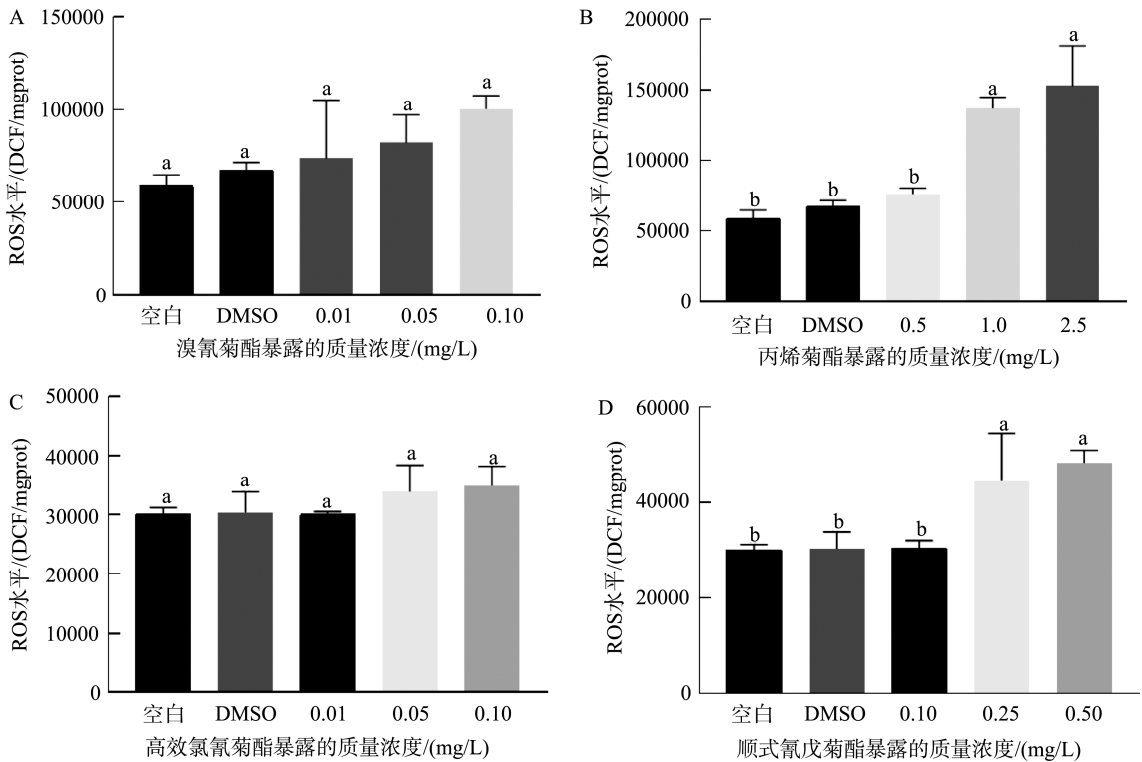


图 3 斑马鱼幼鱼暴露于 4 种农药的 ROS 水平变化

Fig.3 Changes in ROS level of *Danio rerio* larvae exposed to 4 kinds of pesticides

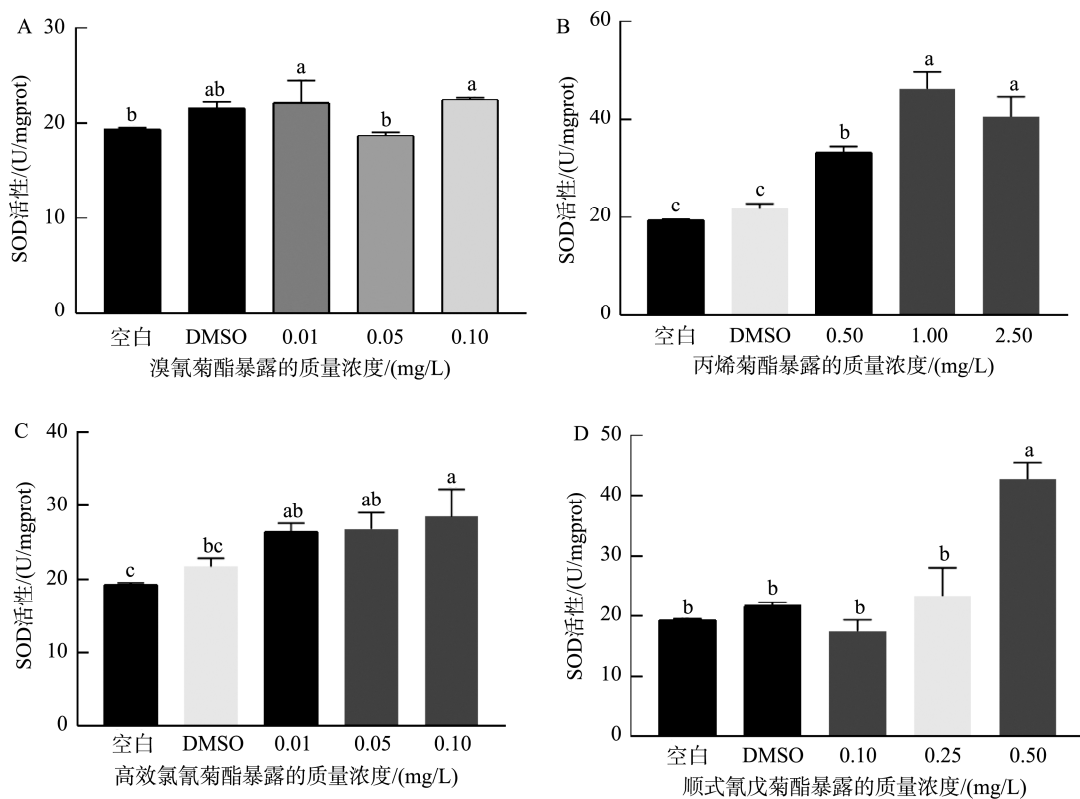


图 4 斑马鱼幼鱼暴露于 4 种农药的 SOD 活性变化

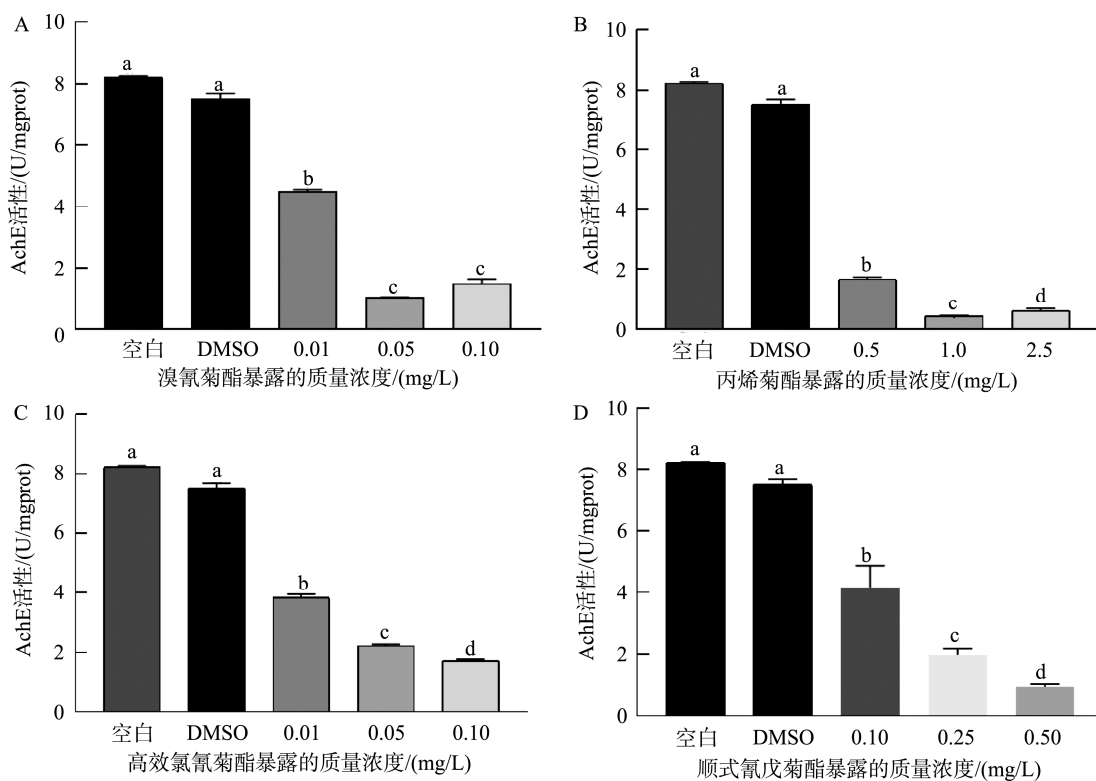
Fig.4 Changes in SOD activities in *Danio rerio* larvae exposed to 4 kinds of pesticides

图 5 斑马鱼幼鱼暴露于 4 种农药的 AchE 活性变化

Fig.5 Changes in AchE activities of *Danio rerio* larvae exposed to 4 kinds of pesticides

3 讨论与结论

本研究首次利用斑马鱼幼鱼开展了拟除虫菊酯类农药神经毒性的系统研究,结果表明,4种拟除虫菊酯类农药可导致斑马鱼幼鱼在形态、行为及神经化学方面的变化,从而表现出明显的神经毒性效应。但是在不同药物之间,上述神经毒性的特征会呈现不同程度的差异;与鼠类等哺乳动物的相关实验结果相比,二者之间在形态、行为以及AChE活性等方面呈现出诸多相似之处,但在ROS、SOD活性变化方面存在明显的差异,这与前人的部分研究结果是一致的^[29-30,34]。

从目前的结果来看,在形态、行为以及AChE活性指标上,拟除虫菊酯类农药对于鼠类等传统模式动物和斑马鱼幼鱼的神经毒性特征,呈现出较高的相似性,这也是之前的研究所未报道的。这些结果表明,上述指标具有较好的潜力和价值,可用于今后斑马鱼神经毒性评价模型的构建,也为斑马鱼模型替代传统哺乳动物实验可提供一定的依据。其原因可能在于,拟除虫菊酯类农药等化学品对于斑马鱼和鼠类等哺乳动物存在高度相似的神经毒性作用机制。例如已有大量研究表明,拟除虫菊酯类农药对斑马鱼和大鼠的钠离子通道和氯离子通道的正常作用均可以造成影响^[7,36-37],钠离子通道开放时间延长会导致钠离子梯度出现异常,进而损伤中枢和周围神经系统,从而出现个体发育迟缓、组织器官畸形等形态变化;同时也可以引起膜去极化,导致神经传导障碍^[38],从而导致神经运动行为的异常变化;而生物体细胞膜上的氯离子通道则与乙酰胆碱的释放及神经传导作用密切相关,一旦菊酯类药物影响到氯离子通道的正常功能并导致乙酰胆碱代谢异常,则有可能对AChE等相关酶类的活性产生进一步的影响。

此外本研究的结果提示我们应充分认识到,由于药物本身性质的差异、以及斑马鱼与哺乳动物本身在生物属性和生物代谢上的差异,其神经毒性特征往往会存在明显的不同之处。例如丙烯菊酯属于I类拟除虫菊酯类农药,毒性相对较弱,可影响斑马鱼的交感神经,主要表现为震颤抽搐等特征;而其他3种农药属于II类拟除虫菊酯类农药,因含有氰基而毒性普遍强于I类^[39],主要影响斑马鱼的运动神经,表现为运动失调等特征,这也是为什么在本研究中,无法利用运动距离和运动速度等指标来准确体现丙烯菊酯的神经毒性作用。对于氧化应激等神经化学指标,上述因素的影响体现得更显著、更复杂,也使得在这些指标上更加难以进行斑马鱼-哺乳动物实验结果之间的转化和替代。暴露过程中药物吸收转化途径的差异(哺乳动物通常灌胃或注射,斑马鱼则通过浸泡)、生物损伤及修复机制的差异、药物作用靶器官及作用机制的差异等,都可能导致ROS、SOD等指标的变化呈现不同的特征^[14];此外与形态、行为能够较好地体现机体整体生物效应不同,这些生化指标

具有更明显的微观性、局部性和不确定性,而且可能受到多种衍生代谢途径和调控机制的共同影响,数量和活性均容易出现不规则的变化^[40]。因此,今后在进一步掌握、阐释斑马鱼神经毒性作用机制的基础上,更加细致、准确地描述斑马鱼相关毒性特征,更加精准地设计暴露实验条件,更加科学、合理地选择标识物或评价指标,从而有效建立斑马鱼与传统动物结果之间的关联,将是有效跨越物种差异障碍、促进斑马鱼替代传统动物而用于食品安全风险评估的关键。

参考文献

- [1] LI C, ZHU H, LI C, *et al.* The present situation of pesticide residues in China and their removal and transformation during food processing [J]. *Food Chem*, 2021, 354(2):129552.
- [2] 袁娜, 杨臻, 乔璐, 等. 中国与主要贸易国水产品中农药残留限量标准对比分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(10): 4244-4256.
YUAN N, YANG Z, QIAO L, *et al.* Comparative analysis of pesticide residue limits in aquatic products between China and major trading countries [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(10): 4244-4256.
- [3] LI Z, FANTKE P. Toward harmonizing global pesticide regulations for surface freshwaters in support of protecting human health [J]. *J Environ Manage*, 2022, 301: 113909.
- [4] OECD. Test No.423: Acute oral toxicity-acute toxic class method [Z]. 2002.
- [5] ELSER BA, HING B, STEVENS HE. A narrative review of converging evidence addressing developmental toxicity of pyrethroid insecticides [J]. *Crit Rev Toxicol*, 2022, 52(5): 371-388.
- [6] ANDERSEN HR, DAVID A, FREIRE C, *et al.* Pyrethroids and developmental neurotoxicity-A critical review of epidemiological studies and supporting mechanistic evidence [J]. *Environ Res*, 2022, 214: 113935.
- [7] VELLINGIRI B, CHANDRASEKHAR M, SABARI SS, *et al.* Neurotoxicity of pesticides-A link to neurodegeneration [J]. *Ecotox Environ Saf*, 2022, 243: 113972.
- [8] RAH Z, RUSTIKA B. Toxicity and health hazards of pyrethroid pesticides [J]. *Sci Insights*, 2022, 41(6): 733-739.
- [9] LIN FJ, LI H, WU DT, *et al.* Recent development in zebrafish model for bioactivity and safety evaluation of natural products [J]. *Crit Rev Food Sci*, 2021, 62(31): 8646-8674.
- [10] DYCKE JV, CUVRY A, KNICKMANN J, *et al.* Infection of zebrafish larvae with human norovirus and evaluation of the *in vivo* efficacy of small-molecule inhibitors [J]. *Nat Protoc*, 2021, 16(4):1830-1849.
- [11] DUCHARME NA, REIF DM, GUSTAFSSON JA, *et al.* Comparison of toxicity values across zebrafish early life stages and mammalian studies: Implications for chemical testing [J]. *Reprod Toxicol*, 2015, 55: 3-10.
- [12] SILVA-BRITO R, PEREIRA AC, FARIAS D, *et al.* Transgenic zebrafish (*Danio rerio*) as an emerging model system in ecotoxicology and toxicology: Historical review, recent advances, and trends [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 12(848): 157665.
- [13] GONALVES R, SOUZA TM, VIEIRA LR, *et al.* Toxicity testing of pesticides in zebrafish-A systematic review on chemicals and associated toxicological endpoints [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2020, 27(10): 10185-10204.

- [14] VORHEES CV, WILLIAMS MT, HAWKEY AB, *et al.* Translating neurobehavioral toxicity across species from zebrafish to rats to humans: Implications for risk assessment [J]. *Front Toxicol*, 2021, 3: 629229.
- [15] TAL T, YAGHOUBI B, LEIN PJ. Translational toxicology in zebrafish [J]. *Curr Opin Toxicol*, 2020, 23: 56–66.
- [16] BAILONE RL, AGUIAR LK, ROCA RO, *et al.* Zebrafish as an animal model for food safety research: Trends in the animal research [J]. *Food Biotechnol*, 2019, 33(4): 283–302.
- [17] BROTMANN K, WOLTERBEEK A, KROESE D, *et al.* Neurotoxic effects in zebrafish embryos by valproic acid and nine of its analogues: The fish-mouse connection? [J]. *Arch Toxicol*, 2021, 95(2): 641–657.
- [18] OECD. Test No.424: Neurotoxicity study in rodents [M]. Paris: OECD, 1997.
- [19] SULE RO, CONDON L, GOMES AV. A common feature of pesticides: Oxidative stress—The role of oxidative stress in pesticide-induced toxicity [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 5563759.
- [20] DEMICCO A, COOPER KR, RICHARDSON JR, *et al.* Developmental neurotoxicity of pyrethroid insecticides in zebrafish embryos [J]. *Toxicol Sci*, 2010, 113(1): 177–186.
- [21] PARLAK V. Evaluation of apoptosis, oxidative stress responses, AChE activity and body malformations in zebrafish (*Danio rerio*) embryos exposed to deltamethrin [J]. *Chemosphere*, 2018, 207: 397–403.
- [22] PARAVANI EV, SIMONIELLO MF, POLETTA GL, *et al.* Cypermethrin induction of DNA damage and oxidative stress in zebrafish gill cells [J]. *Ecotox Environ Saf*, 2019, 173: 1–7.
- [23] VON-HELLFELD R, OVCHAROVA V, BEVAN S, *et al.* Zebrafish embryo neonicotinoid developmental neurotoxicity in the FET test and behavioral assays [J]. *ALTEX-Altern Anim Ex*, 2022, 39(3): 367–387.
- [24] WANG Z, ZHAO H, XU Y, *et al.* Early-life lead exposure induces long-term toxicity in the central nervous system: From zebrafish larvae to juveniles and adults [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 804: 150185.
- [25] FAN R, CHEN J, GAO X, *et al.* Neurodevelopmental toxicity of alumina nanoparticles to zebrafish larvae: Toxic effects of particle sizes and ions [J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, 157: 112587.
- [26] SALAHINEJAD A, NADERI M, ATTARAN A, *et al.* Effects of chronic exposure to bisphenol-S on social behaviors in adult zebrafish: Disruption of the neuropeptide signaling pathways in the brain [J]. *Environ Pollut*, 2020, 262: 113992.
- [27] ZHU B, WANG Q, SHI X, *et al.* Effect of combined exposure to lead and decabromodiphenyl ether on neurodevelopment of zebrafish larvae [J]. *Chemosphere*, 2016, 144: 1646–1654.
- [28] OECD. Test No.426: Developmental neurotoxicity study [M]. Paris: OECD, 2007.
- [29] 柴晓静. II-型拟除虫菊酯类农药对小鼠中枢神经系统毒作用机制的研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2006.
- CHAI XJ. Study on the mechanism of toxic effects of type II pyrethroid pesticides on the central nervous system of mice [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2006.
- [30] ALLAM A, ABDEEN A, DEVKOTA HP, *et al.* N-acetylcysteine alleviated the deltamethrin-induced oxidative cascade and apoptosis in liver and kidney tissues [J]. *Int J Environ Res Publ Health*, 2022, 19(2): 638.
- [31] ARIF A, QUDS R, MAHMOOD R. Bioallethrin enhances generation of ROS, damages DNA, impairs the redox system and causes mitochondrial dysfunction in human lymphocytes [J]. *Sci Rep-UK*, 2021, 11(1): 8300.
- [32] 宋宣蔚. 聚苯乙烯微塑料和高效氯戊菊酯联合暴露对斑马鱼肝脏的毒性效应研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021.
- SONG XW. Toxic effects of combined exposure of polystyrene microplastics and high potency cyhalothrin on the liver of zebrafish [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2021.
- [33] NIERADKO-IWANICKA B, BORZCKI A. How deltamethrin produces oxidative stress in liver and kidney [J]. *Pol J Environ Stud*, 2016, 25(3): 1367–1371.
- [34] EL-DEMERDASH FM. Lipid peroxidation, oxidative stress and acetylcholinesterase in rat brain exposed to organophosphate and pyrethroid insecticides [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(6): 1346–1352.
- [35] HOSSAIN MM, SUZUKI T, SATO I, *et al.* Neuromechanical effects of pyrethroids, allethrin, cyhalothrin and deltamethrin on the cholinergic processes in rat brain [J]. *Life Sci*, 2005, 77(7): 795–807.
- [36] BURR SA, RAY DE. Structure-activity and interaction effects of 14 different pyrethroids on voltage-gated chloride ion channels [J]. *Toxicol Sci*, 2004, 77(2): 341–346.
- [37] TU W, LU B, NIU L, *et al.* Dynamics of uptake and elimination of pyrethroid insecticides in zebrafish (*Danio rerio*) eleutheroembryos [J]. *Ecotox Environ Saf*, 2014, 107: 186–191.
- [38] YANG C, LIM W, SONG G. Mediation of oxidative stress toxicity induced by pyrethroid pesticides in fish [J]. *Comp Biochem Phys Part C*, 2020, 234: 108758.
- [39] SINGH S, MUKHERJEE A, JAISWAL DK, *et al.* Advances and future prospects of pyrethroids: Toxicity and microbial degradation [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 829: 154561.
- [40] WULLIMANN MF. Secondary neurogenesis and telencephalic organization in zebrafish and mice: A brief review [J]. *Integr Zool*, 2009, 4(1): 123–133.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

作者简介



李 颖, 硕士研究生, 主要研究方向为水产品安全。
E-mail: ly28022021@163.com



曹立民, 博士, 教授, 主要研究方向为水产品质量安全。
E-mail: caolimin@ouc.edu.cn