

基于氧化应激对手性三唑类杀菌剂诱导斑马鱼毒性效应的研究进展

闫志惠^{1,2}, 范蓓², 李琳², 杨林², 赵梦莹², 张艺凡²,
刘露露², 王凤忠², 魏宝东^{1*}, 李敏敏^{2*}

(1. 沈阳农业大学食品学院, 沈阳 110005; 2. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100083)

摘要: 三唑类杀菌剂一般具有一个或多个手性中心, 因在环境及食品加工过程中具有立体选择性行为, 一直是研究的热点与重点。三唑类杀菌剂因大量使用不可避免残留在水体及食品中, 随着食物链进入到人体内, 因此, 基于模式生物斑马鱼的毒理学评价对三唑类杀菌剂评估具有重要意义。本文对近年来手性三唑类杀菌剂诱导斑马鱼毒性效应进行综述, 发现其毒性效应大多与氧化应激调控有关, 但从手性对映体角度对三唑类杀菌剂对斑马鱼的影响及分子机制阐述尚不清晰。围绕氧化应激通路、线粒体氧化磷酸化及抗氧化酶活性改变等方面, 探索三唑类杀菌剂的选择性毒性机制, 可为食品中农药类危害物毒性风险评估的控制提供基础数据与研究思路。

关键词: 三唑类杀菌剂; 手性; 斑马鱼; 对映异构体; 氧化应激

Advances in oxidative stress-based adversarial triazole fungicide induced toxic effects in *Danio rerio*

YAN Zhi-Hui^{1,2}, FAN Bei², LI Lin², YANG Lin², ZHAO Meng-Ying², ZHANG Yi-Fan²,
LIU Lu-Lu², WANG Feng-Zhong², WEI Bao-Dong^{1*}, LI Min-Min^{2*}

(1. School of Food, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110005, China; 2. Institute of Agricultural Product Processing, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100083, China)

ABSTRACT: Triazole fungicides generally have one or more chiral centers and have been a hot spot and focus of research because of their stereoselective behavior in the environment and during food processing. Due to the heavy use, triazole fungicides are inevitably left in water and food and reach human body via the food chain; therefore, toxicological evaluation using *Danio rerio* as a model organism is essential for triazole fungicide assessment. This paper reviewed the role of chiral triazole fungicides in inducing toxicity in *Danio rerio* in recent years and found that majority of their toxic effects were related to oxidative stress regulation. However, the effects and molecular mechanisms of triazole fungicides on *Danio rerio* from a chiral enantiomeric perspective were not clearly elucidated. Focusing on oxidative stress pathway, mitochondrial oxidative phosphorylation and changes in antioxidant enzyme

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFF1102200)、国家自然科学基金项目(32272443、31872006)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2022YFF1102200), and the National Natural Science Foundation of China (32272443, 31872006)

***通信作者:** 魏宝东, 博士, 副教授, 主要研究方向为果蔬采后生物学与贮运保鲜。E-mail: bdweisyau@163.com

李敏敏, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: liminmin@caas.cn

***Corresponding author:** WEI Bao-Dong, Ph.D, Associate Professor, School of Food, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110005, China. E-mail: bdweisyau@163.com

LI Min-Min, Ph.D, Associate Professor, Institute of Agricultural Product Processing, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100083, China. E-mail: liminmin@caas.cn

activity, exploring the selective toxicity mechanism of triazole fungicides can provide basic data and research ideas for the control of toxicity risk assessment of pesticide hazards in food.

KEY WORDS: triazole fungicides; chirality; *Danio rerio*; enantiomer; oxidative stress

0 引言

三唑类杀菌剂是一类具有 1,2,4-三唑环有机含氮杂环结构的化合物,用于抑制真菌生长并起到植物生长调节作用的农业投入品,因为其毒性小、用量低效果好、广谱和保护治疗效果持效期长的优点而被广泛使用^[1]。最早的三唑类杀菌剂是威菌磷,由荷兰的 N.V.Philips-Duphar 公司在 20 世纪 60 年代初期研发合成,但第一个商品化的三唑类杀菌剂是由拜耳公司在 1974 年研发出的三唑酮,引起了人们对三唑类杀菌活性的重视和广泛的关注。20 世纪 70~90 年代不断有新产品上市,自此成为杀菌剂市场上的主流产品之一^[2]。三唑类杀菌剂包括丙环唑、多效唑、氟环唑、己唑醇、环唑醇及丙硫菌唑等。随着农药使用的广泛性,不可避免残留在植物源食品原料或迁移到水生环境中,随着食物链而影响人体健康,污染水生环境,在鱼体内蓄积,干扰水生生物^[3]。

大量研究表明,三唑类杀菌剂对水生生物有害,斑马鱼(*Danio rerio*)是生活在热带淡水中的一种硬骨鱼,与人类有 87% 的基因同源性,具有成本低、胚胎透明、易于观察、生殖周期短、发育快等优点,可以进行人类健康相关评估,且早期幼鱼阶段对水中的药物比较敏感容易受到其干扰,已被用作基因调控、毒理学、DNA 修复和细胞凋亡等研究的模式生物^[4]。

手性分子是指与其镜像不相同不能互相重合的具有一定构型或构象的分子,在手性分子中,中心原子连有 4 个不同原子或基团,即为分子的手性中心。大多数三唑类农药具有手性中心,存在立体选择性毒性效应^[5]。然而,有关手性三唑类杀菌剂引起斑马鱼氧化损伤的研究尚不清晰。本文聚焦三唑类杀菌剂诱导斑马鱼氧化应激的研究进展,综述了近年来手性三唑类杀菌剂通过 DNA 损伤和活性氧(reactive oxygen species, ROS)介导的氧化应激、脂质过氧化等反应引起的斑马鱼发育、神经、生殖等毒性。鱼类作为污染物传播介质,已成为人类潜在的食品安全和健康风险的来源之一,并从生态毒性角度,阐明在手性水平上的毒性机制,有助于更好地了解三唑类杀菌剂的潜在威胁,为今后食品安全风险评估替代技术提供参考。

1 手性三唑类杀菌剂

1.1 概况

近年来,手性三唑类杀菌剂广泛使用引起的环境安全问题受到高度关注,手性农药进入非手性环境中表现出

相同的物理化学性质,但当进入手性环境中表现出不同或相反的反应,存在立体选择性毒性、吸收、分布、扩散和降解行为^[5],从而导致手性农药安全性不明。例如, *S*-(-)-戊菌唑和外消旋体对大鼠肝脏毒性显著高于 *R*-(+)-戊菌唑^[6]。(2*R*,3*S*)-氟环唑对大型溞(*Daphnia magna*)的毒性 48 h 半数致死浓度(lethal concentration 50, LC₅₀) (4.16 mg/L)高于 (2*S*,3*R*)-氟环唑 48 h LC₅₀ (8.49 mg/L)^[7]。

此外,三唑类杀菌剂大多是手性农药,据报道,全球市场上商品化的农药大约 30% 为手性农药,而 84% 的三唑类杀菌剂是具有手性的^[8]。市场目前售卖的产品中大约 7% 是对映异构体,近 90% 的手性农药是以外消旋体的形式进行出售的^[9]。手性三唑类杀菌剂在生物活性和毒性方面表现出立体选择性差异,如表 1 所示。

1.2 非靶标生物对映体选择性毒性

在农药施用过程中,只有 1% 左右农药作用于靶标生物,其他流入水生环境,长期暴露对水生生物产生毒性风险^[9]。作为常见的手性农药三唑类杀菌剂对水生生物安全产生多种影响。长期低剂量暴露结果表明,三唑类杀菌剂可引起抗氧化系统失衡导致其他毒性产生,如 WANG 等^[23]研究发现鲤鱼(*Cyprinus carpio*)在苯醚甲环唑干扰下,氧化应激相关调控基因(*Nrf2* 和 *Keap-1*)的表达水平上调,通过 *Nrf2*-*Keap-1* 信号通路显著降低了抗氧化酶过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和谷胱甘肽过氧化酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)的转录水平和活性; PARK 等^[24]研究发现三唑醇暴露下 ROS 过量产生,并引起斑马鱼的细胞凋亡;苯醚甲环唑引起氧化应激反应,造成了斑马鱼器官的氧化损伤,降低了肝脏的抗氧化酶活,并抑制生长发育,表现出孵化率降低、心率下降、自主运动异常以及多种致畸症状^[25]。三唑类杀菌剂的 96 h-LC₅₀ 急性毒性是以斑马鱼为模式动物研究最为广泛,郭晶等^[26]通过测定 17 种三唑类杀菌剂对斑马鱼 96 h-LC₅₀ 急性毒性,发现烯唑醇、己唑醇、丙环唑、戊菌唑、噁唑唑、腈菌唑、氟硅唑为中等毒性,三唑醇、三唑酮、双苯三唑醇、多效唑、烯效唑、戊唑醇、粉唑醇、环唑醇、氟环唑、三环唑为低等毒性。表 2 列举了 16 种三唑类杀菌剂对斑马鱼成鱼急性毒性分类情况,其中毒性最高为氯氟醚菌唑,最低为三唑醇,苯醚甲环唑、戊唑醇、丙环唑、叶菌唑、丙硫菌唑、多效唑、三唑醇、环唑醇、三环唑在毒性方面表现为氧化应激,其他毒性效应包括生殖毒性、发育毒性、内分泌干扰、代谢紊乱和神经毒性。综合上述,氧化应激是三唑类杀菌剂在环境暴露下影响斑马鱼常见的反应,也是诱导其他毒性的潜在途径。

表 1 手性三唑类农药生物活性与毒性差异
Table 1 Differences in biological activity and toxicity of chiral triazole pesticides

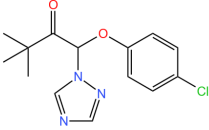
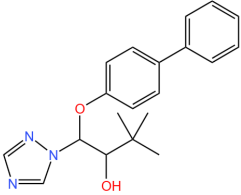
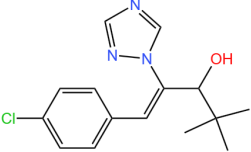
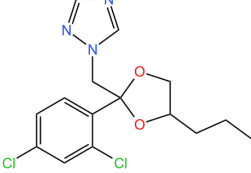
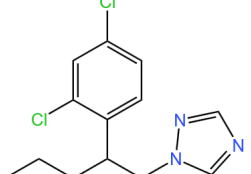
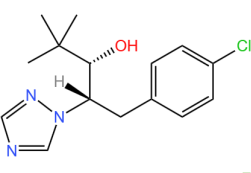
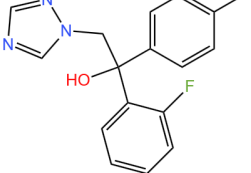
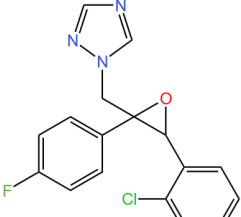
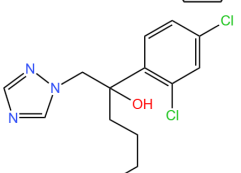
杀菌剂	化学结构	作用生物	对映体生物活性	来源
三唑酮		藻类 ^[10]	(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)-杀菌活性强	1976 年德国拜尔
双苯三唑醇		灰葡萄孢 ^[11]	(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)-抑制作用是(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-的 10.2 倍	1979 年德国拜尔
烯效唑		斑马鱼 ^[12]	<i>S</i> -(+)-烯效唑生物富集性强	20 世纪 80 年代 日本住友
丙环唑		斜生栅藻 ^[13]	(2 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-毒性比(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-高 2.13 倍	1980 年英国先正达
戊菌唑		链格孢菌、贝氏葡萄孢菌、炭疽病菌、尖孢镰孢 ^[14]	<i>S</i> -(-)-抑菌活性是 <i>R</i> -(+)-的 1.0~4.4 倍	1983 年英国先正达
多效唑		水稻幼苗 ^[15]	(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-抑制生长能力是 (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-的 3.09 倍	1984 年英国卜内门
粉唑醇		立枯丝核菌、番茄早疫病菌、稻瘟病菌、禾谷镰孢菌、灰葡萄孢 ^[16]	(<i>R</i>)-的杀真菌活性比(<i>S</i>)-的高 1.49~6.23 倍	1984 年英国先正达
氟环唑		植物病原体 ^[7]	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-生物活性是(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-的 1.3~7.25 倍	1985 年 德国巴斯夫
己唑醇		炭疽病菌 ^[17]	<i>R</i> -(-)-杀菌活性强	1986 年英国先正达

表 1(续)

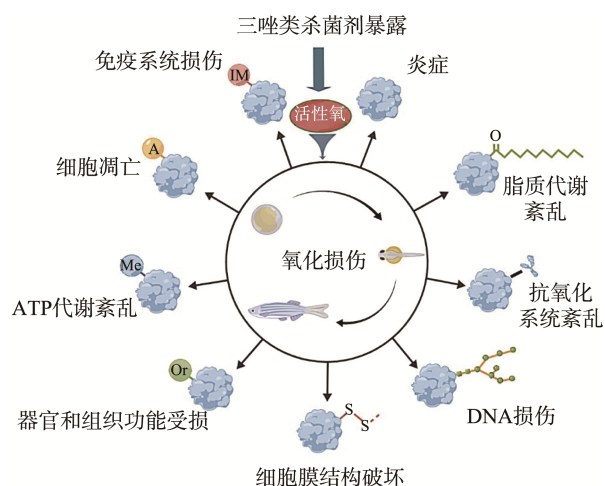
杀菌剂	化学结构	作用生物	对映体生物活性	来源
戊唑醇		斑马鱼 ^[8]	<i>R</i> -(-)-的毒性约为 <i>S</i> -(+)- 的 1.4 倍	1988 年德国拜耳
烯唑醇		子囊菌属 ^[18]	<i>R</i> -(-)-杀菌活性强, <i>S</i> -(+)- 植物生长调节活性高	1988 年日本住友
环唑醇		斑马鱼 ^[19]	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)生物蓄积性强	1988 年英国先正达
叶菌唑		斑马鱼 ^[20]	(1 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)生物蓄积性强, (1 <i>S</i> ,5 <i>R</i>) 杀菌活性高	1993 年 日本吴羽
丙硫菌唑		镰刀霉菌、核盘菌、瓜亡草菌 ^[21]	<i>R</i> -(-)-生物活性约为 <i>S</i> -(+)- 的 6~262 倍	2004 年德国拜耳
氯氟醚菌唑		核盘菌、禾谷镰刀菌、灰葡萄孢、 枝镰孢菌、胶孢炭疽菌、 水稻赤霉菌 ^[22]	<i>R</i> -(-)-生物活性比 <i>S</i> -(+)- 高 5~473 倍	2016 年德国巴斯夫

表 2 三唑类杀菌剂对斑马鱼成鱼急性毒性风险分类(mg a,i/L)
Table 2 Triazole fungicides for risk classification of acute toxicity in *Danio rerio* adults (mg a,i/L)

杀菌剂	英文名称	毒性等级	96 h-LC ₅₀	毒性分类	参考文献
氯氟醚菌唑	mefentrifluconazole	中毒	1.15	发育毒性	[5]
苯醚甲环唑	difenoconazole	中毒	1.45	氧化应激	[25]
氟硅唑	flusilazole	中毒	1.70	发育毒性	[27–28]
丙环唑	propiconazole	中毒	1.93	发育毒性、氧化应激	[29–30]
丙硫菌唑	prothioconazole	中毒	2.06	发育毒性、氧化应激	[31–32]
戊菌唑	penconazole	中毒	4.23	内分泌干扰、发育毒性	[21,33]
烯唑醇	diniconazole	中毒	4.36	代谢紊乱	[26]
己唑醇	hexaconazole	中毒	4.48	内分泌干扰	[34]
戊唑醇	tebuconazole	中毒	5.33	氧化应激、生殖毒性	[35–36]
叶菌唑	metconazole	中毒	5.34	氧化应激	[19,37]
腈菌唑	myclobutanil	中毒	6.34	发育毒性	[38]
三环唑	tricyclazole	低毒	11.50	氧化应激	[26,39]
氟环唑	epoxiconazole	低毒	12.56	生殖毒性、代谢紊乱	[26,40]
三唑酮	triadimefon	低毒	13.80	发育毒性	[26]
环唑醇	cyproconazole	低毒	17.21	发育毒性、氧化应激	[19,41]
多效唑	paclobutrazol	低毒	20.55	氧化应激、神经毒性	[42]
三唑醇	triadimenol	低毒	23.61	发育毒性、氧化应激	[26]

而手性三唑类杀菌剂对非靶标生物的毒性具有立体选择性。如(1*R*,5*S*)-叶菌唑易在斑马鱼体内富集, 且对映体(1*R*,5*S*)-叶菌唑毒性强于(1*S*,5*R*)-叶菌唑和外消旋体^[20]。GUO 等^[43]研究了烯效唑对映体对斑马鱼的选择性毒性, 结果表明(*R*)-烯效唑对斑马鱼的急性毒性是(*S*)-烯效唑的 1.16 倍。(*R*)-烯效唑的氧化应激响应是(*S*)-烯效唑的 1.27~1.53 倍, (*R*)-烯效唑比(*S*)-烯效唑更能破坏斑马鱼体内抗氧化系统的平衡, 并引起斑马鱼体内的氧化损伤。除氧化损伤外, 三唑类杀菌剂对神经递质的影响也具有立体选择性。高浓度的 *R*-(+)-戊菌唑暴露显著降低了斑马鱼幼鱼的多巴胺和血清素水平, 外消旋体和 *R*-(+)-戊菌唑降低了甘氨酸和去甲肾上腺素水平, 同时, *S*-(-)-戊菌唑暴露仅导致一个相关基因表达变化, 所以 *R*-(+)-戊菌唑和外消旋体对斑马鱼胚胎的神经毒性大于 *S*-(-)-戊菌唑^[44]。

本文以斑马鱼为模式生物, 对手性三唑类杀菌剂对映异构体的氧化损伤差异机制和毒性风险安全性进行分析和归纳。如图 1 所示, 氧化应激反应与免疫系统损伤、细胞凋亡、ATP 代谢紊乱、器官和组织功能受损、细胞膜结构破坏、DNA 损伤、抗氧化系统紊乱、脂质代谢紊乱、炎症等多种毒性影响高度相关。



注: 三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)。

图 1 三唑类杀菌剂暴露引起斑马鱼氧化损伤的潜在毒性机制
Fig.1 Toxic mechanism of oxidative damage of *Danio rerio* caused by exposure to triazole fungicides

2 典型手性三唑类杀菌剂对斑马鱼的毒性效应

2.1 丙环唑对斑马鱼的毒性效应

丙环唑是使用最广泛的三唑类广谱性杀菌剂, 对斑马鱼毒性为中毒。但葛婧等^[45]研究发现丙环唑对斑马鱼不同生命阶段均有一定的致死效应, 幼鱼阶段最为敏感。TENG 等^[30]发现丙环唑暴露抑制斑马鱼生长繁殖, 胚胎受精 48 h 后氧化应激和细胞凋亡相关分子生物标志物与对照

组相比没有明显变化, 但在受精 5 d 后 mRNA 转录基因 *GST*、*Casp9* 及 *Bax* 上调并增加了过氧化脂质(Lpo)和胰天蛋白酶(*Casp3/7*)的酶活性^[46], 表现为脂质过氧化、氧化应激、呼吸减缓和细胞凋亡现象。VALADAS 等^[47]研究表明暴露于丙环唑的斑马鱼大脑中 SOD 和 CAT 的活性增加, 上调了与脂质积累、脂肪产生、脂肪酸 β 氧化、胆固醇合成和代谢相关的基因表达, 引起斑马鱼心跳速度缓慢、孵化率降低、体长变短以及行动迟缓, 诱导斑马鱼脂质过氧化损伤。斑马鱼在胚胎时期无显著变化主要与胚胎绒毛膜阻碍了丙环唑对胚胎的暴露程度有关, 导致胚胎敏感度降低, 斑马鱼幼鱼发育因没有绒毛膜保护, 暴露后更容易产生氧化损伤和细胞凋亡。ZHAO 等^[29]研究了丙环唑对于斑马鱼胚胎的短期暴露影响, 5.0 mg/L 丙环唑诱导斑马鱼胚胎氧化损伤, ROS 和丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量增加, 抗氧化酶活性改变。暴露在 0.5 mg/L 丙环唑显著抑制斑马鱼胚胎中的三磷酸腺苷酶(Na-K-ATP)的活性($P < 0.05$), *bax*、*p53*、*casp-3*、*casp-9* 和 *apaf-1* 的表达水平显著升高, 诱导了细胞凋亡。

综上所述, 丙环唑作为使用最广泛的手性三唑类杀菌剂, 但从手性对映体选择性角度对斑马鱼的毒性差异机制研究尚不清晰, 而外消旋体暴露后显著影响斑马鱼氧化应激相关基因的表达, 产生发育、生殖或免疫等毒性效应, 建议在未来深入研究。

2.2 多效唑对斑马鱼的毒性效应

多效唑属于低毒的植物生长调节剂, 可通过抑制赤霉素的生物合成来延缓植物的生长, 对斑马鱼的急性毒性为低毒^[48]。水生生物小球藻(*Chlorella vulgaris*)在多效唑两个异构体(图 2)暴露下 ROS 和抗氧化酶有对映选择性增加的现象, 其中 *R*-对映体暴露后的藻细胞 MDA 含量高于其他组, 而 MDA 被认为是氧化应激的生物标志物, 可以认为 *R*-对映体引起的氧化应激反应更强^[49]。DING 等^[42]研究认为 CAT 活性变化是多效唑诱导氧化应激的生物标志物, 在经多效唑暴露 96 h 后 SOD 活性显著增加。商品化多效唑是由(2*S*,3*S*)-多效唑和(2*R*,3*R*)-多效唑组成^[50]。GUO 等^[51]研究发现, (2*R*,3*R*)-多效唑在斑马鱼体内的氧化应激反应比(2*S*,3*S*)-多效唑更强, 在暴露的第 4 d 和第 7 d 时, (2*R*,3*R*)-多效唑的 SOD 与 CAT 活性是(2*S*,3*S*)-多效唑的 1.09~1.35 倍, MDA 含量增加表明 SOD 与 CAT 不能有效地清除过度积累的 ROS 从而导致细胞氧化损伤, 且蛋白质羰基(protein carbonyl, PC)含量持续增加(PC 是 ROS 在生物体中引起的不可逆蛋白质损伤的指示), 在暴露期间两个对映体在 MDA 与 PC 含量表现出显著差异, 且(2*R*,3*R*)-多效唑对斑马鱼的胆碱能系统与神经递质的破坏作用大于(2*S*,3*S*)-多效唑。这些结果表明多效唑引发斑马鱼氧化应激反应, ROS 大量产生, 诱导脂质和蛋白质损伤, 进一步干扰胆碱

能系统与神经系统相关酶的表达。其他研究发现氧化应激介导 α -氨基戊二酸(glutamic acid, Glu)和 γ -氨基丁酸(gamma-aminobutyric acid, GABA)含量变化^[52]。所以, 多效唑诱导斑马鱼的神经毒性可归因于氧化应激的介导作用。

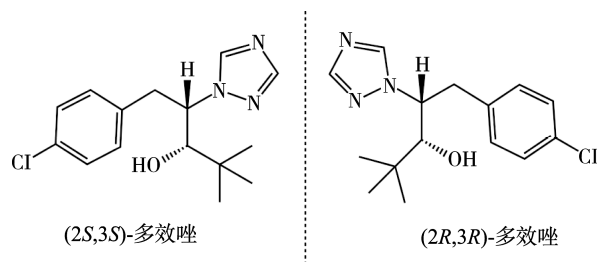


图 2 多效唑的 2 种立体异构体
Fig.2 Two kinds of stereoisomers of paclobutrazol

2.3 氟环唑对斑马鱼的毒性效应

氟环唑属于低毒杀菌剂, 可通过提高作物几丁质酶的活性, 抑制病菌的合成, 对斑马鱼的急性毒性为低毒。研究显示氟环唑暴露影响斑马鱼细胞色素 P450、谷胱甘肽 S-转移酶和氧化应激的基因转录水平。如图 3 所示, 刘娜^[12]研究发现(2R,3S)-氟环唑比(2S,3R)-氟环唑生物富集性强, (2R,3S)-氟环唑对斑马鱼过氧化物酶(peroxidase, POD)和 SOD 抑制作用更强, 氧化损伤最明显, 氟环唑异构体介导了 GSH-Px 含量上升, 生物体的自我保护机制被激活。王瑶^[53]研究发现(2R,3S)-氟环唑比(2S,3R)-氟环唑(100、1000 $\mu\text{g/L}$, 21 d), 更容易在斑马鱼体内发生富集, 这与上个学者的研究结果一致, 且抑制了斑马鱼肝脏的线粒体呼吸链、ATP 合成和脂肪酸的 β -氧化相关基因的表达, 这表明氧化损伤表现在斑马鱼肝脏上。WENG 等^[54]发现氟环唑暴露处理引起斑马鱼幼鱼体长变短, 心跳迟缓和畸形变化, 包括身体弯曲、脊柱弯曲、心包水肿、卵黄囊水肿等。WANG 等^[55]研究也表明了(2R,3S)-氟环唑暴露对呼吸链成分有干扰作用, 脂肪酸 β 氧化, 导致线粒体功能受损。线粒体功能受损有可能会对生物体造成氧化损伤, 有关氟环唑对映体对斑马鱼线粒体与氧化损伤之间的毒性作用之间的关系机制值得重点关注。

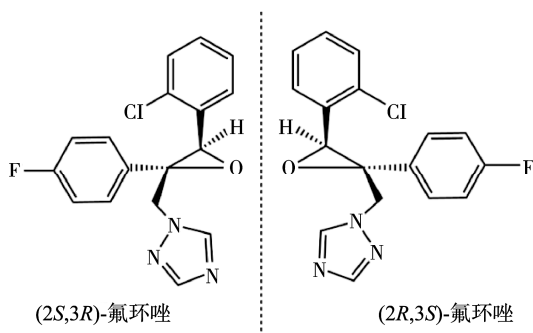


图 3 氟环唑的 2 种立体异构体
Fig.3 Two kinds of stereoisomers of epoxiconazole

2.4 己唑醇对斑马鱼的毒性效应

己唑醇属于低毒杀菌剂, 有效防治子囊菌、担子菌和半知菌引起的病害, 可破坏和阻止病菌麦角甾醇的生物合成, 对斑马鱼毒性为中毒, 通过 p53 信号通路的细胞凋亡引起斑马鱼肝脏氧化损伤。王瑶^[53]研究发现 S-(-)-己唑醇比 R-(+)-己唑醇(图 4)更易引发斑马鱼氧化应激反应, 可能是 S-(-)-己唑醇比 R-(+)-己唑醇更容易在斑马鱼体内富集, WANG 等^[56]研究也验证这个结果, 暴露于斑马鱼中的 S-(+)-己唑醇浓度是 R-(+)-己唑醇 1.5 倍。并且通过激活含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteiny aspartate specific proteinase, Caspase)引起斑马鱼氧化应激反应促进机体细胞凋亡, 主要表现为肝脏上, 其显著下调了 SOD、CAT、GPX 和 GSH 活性。氧化酶活性的抑制导致 ROS 的过度产生, 且斑马鱼肝脏中的抗氧化酶活性显著降低, 并上调了有关肝脏的凋亡基因, 引起斑马鱼肝脏的氧化损伤。己唑醇对映异构体引起的斑马鱼肝脏氧化损伤和促进细胞凋亡方面存在差异, 促进了斑马鱼肝脏氧化损伤等。

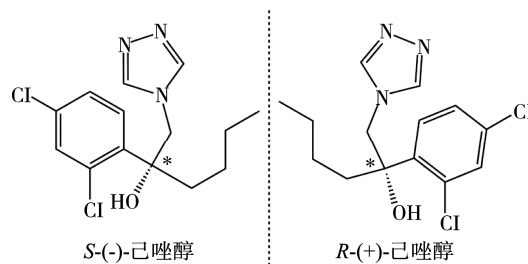


图 4 己唑醇的 2 种立体异构体
Fig.4 Two kinds of stereoisomers of hexaconazole

2.5 环唑醇对斑马鱼的毒性效应

环唑醇属于低毒杀菌剂, 是保护蔬菜、果树和作物抵御有害生物侵染和调节植物生长的农药, 如图 5 所示, 包括(2S,3R)、(2S,3S)、(2R,3S)和(2R,3R)两对对映异构体。HE 等^[19]发现生物富集能力(2S,3R)>(2R,3R)>Rac-环唑醇>(2S,3S)>(2R,3S), (2S,3R)-环唑醇在斑马鱼中有较强的富集能力。高浓度的(2R,3R)-环唑醇显著增加 POD 活性且 1 mg/L (2R,3R)-环唑醇处理组 POD 活性是对照组 POD 活性的 1.82 倍, 且 CAT 活性随暴露浓度增加而下降, 呈线性关系, 表明抗氧化能力降低, SOD 与 POD 活性增加表明协同抵抗药物引起的氧化作用, 抗氧化能力降低表明抗氧化系统紊乱, 诱发氧化损伤。CAO 等^[41]研究发现 25 $\mu\text{mol/L}$ 和 1 $\mu\text{mol/L}$ 环唑醇暴露下的斑马鱼幼鱼在黑暗期间的运动能力均下降, 这表示环唑醇影响斑马鱼的运动能力。研究显示斑马鱼胚胎时期对环境中环唑醇的暴露敏感度小于成鱼。综上, 环唑醇具有较高的生物富集能力, (2R,3R)-环唑醇引起斑马鱼生物体内的酶活性改变, 导致斑马鱼体内氧化损伤且不易代谢, 行动迟缓等。在环唑醇应用中应避免使用(2R,3R)-环唑醇, 其对水生生物和人类健康具有潜在风险。

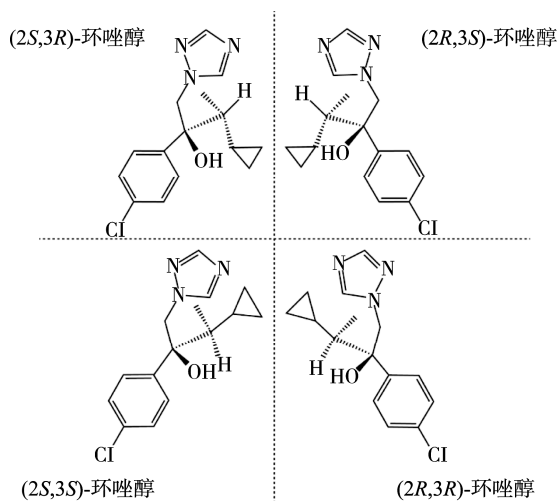


图 5 环唑醇的 4 种立体异构体

Fig.5 Four kinds of stereoisomers of cyproconazole

2.6 丙硫菌唑对斑马鱼的毒性效应

丙硫菌唑属于新型、低毒、广谱的三唑硫酮类杀菌剂,具有良好的内吸活性和保护作用(如图 6 所示)。在低浓度下,丙硫菌唑暴露 8 d 后,生物富集因子达到了 35.56,在斑马鱼体内具有中等生物富集效应,毒性为中毒^[32]。丙硫菌唑在诱导氧化应激基因表达研究方面较少。

SHEN 等^[57]研究表明高浓度的丙硫菌唑暴露下会上调斑马鱼体内氧化应激防御相关基因和细胞凋亡相关基因 *p53* 的表达水平,引发氧化应激反应和 *p53* 信号依赖性反应,引起胚胎畸形并且观察到细胞凋亡的现象。ZHAI 等^[58]研究表明丙硫菌唑通过细胞凋亡信号通路导致生物体的氧化损伤,且表明 *R*-(-)丙硫菌唑与外消旋体相比对水生生物造成的风险会更低。郭宝元等^[32]研究表明与外消旋体相比 *R*-(-)丙硫菌唑具有更高的生物活性和更低的生态毒性,这与上个研究结果一致。ZHANG 等^[59]进一步研究丙硫菌

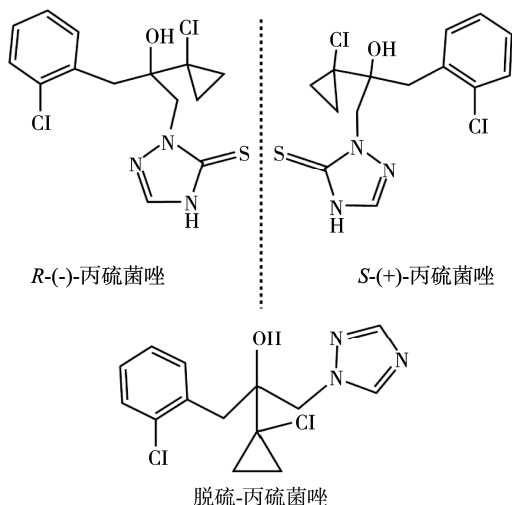


图 6 丙硫菌唑的 2 种立体异构体及代谢物

Fig.6 Two kinds of stereoisomers and metabolites of prothioconazole

唑在斑马鱼中的代谢为增毒代谢,且表现出立体选择性行为,其代谢物脱硫-丙硫菌唑的毒性效应是丙硫菌唑的 3.5 倍。丙硫菌唑母体还是代谢产物均上调了斑马鱼体内 MDA 活性,从而引起氧化应激反应。

根据上述内容,在评估丙硫菌唑毒性时,应当考虑对映体差异和代谢物毒性机制的影响,可以研究有效去除水中农药残留的方法以便保证斑马鱼生存环境的安全。

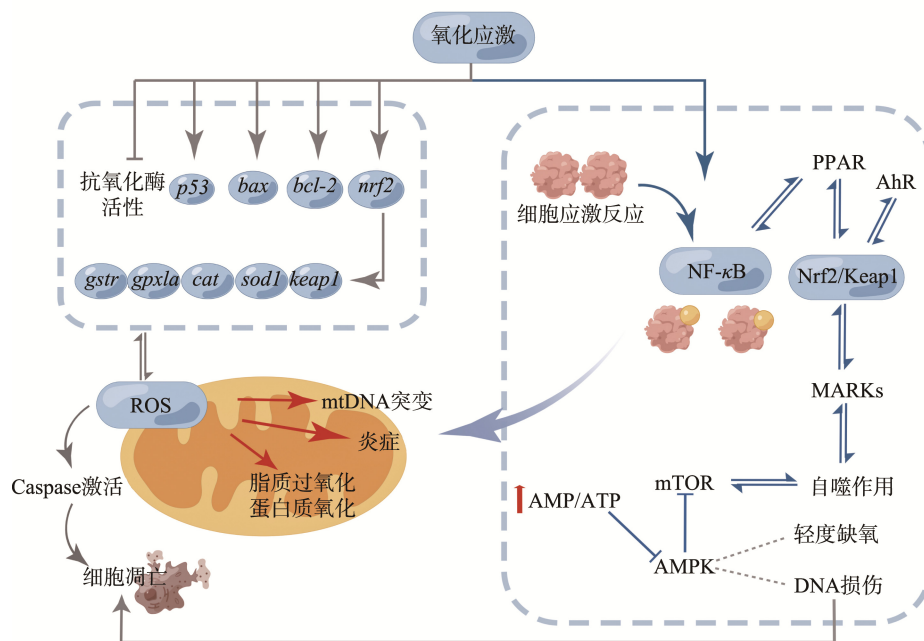
3 氧化应激途径

当受到外源化学品干扰时,会刺激生物体内产生大量的 ROS,引起生物体的氧化应激反应即组织氧化还原状态的失衡,导致生物体清除能力降低引起细胞损伤、凋亡和破坏细胞中的生物分子从而出现生物体氧化损伤的过程,进一步破坏生物膜与大分子结构和功能,可使 DNA 链断裂、脂质过氧化、酶蛋白失活等^[4]。机体氧化损伤目前已成为一个活跃的研究领域^[4]。氧化损伤可以由多种指标来衡量,常见如抗氧化酶类、ROS、MDA 等。生物体为了维持体内的氧化平衡,通过增加抗氧化酶活性或含量来清除过量产生的自由基,如 CAT、SOD、POD 和 GSH-Px 等,它们共同组成了机体自由基清除系统^[60]。此外,ROS 是最常用的生物标志物之一,当生物体内 ROS 大幅度增加时,可以指示化学物质对水生生物造成的氧化损伤^[56,61];MDA 是脂质过氧化反应的中间产物被认为是斑马鱼氧化损伤的生物标志物^[60]。线粒体功能障碍也与 ROS 增加和抗氧化系统紊乱高度相关,氧化磷酸化能抑制线粒体的 ATP 的产生,引起细胞凋亡,导致鱼类发育迟缓和行为异常等症^[62]。

通过以上表述与图 7 结合,对于农药介导的毒性效应,围绕炎症信号转导、氧化应激、细胞凋亡等通路开展了大量的研究。氧化应激是介导农药毒性的重要途径之一,同时机体也存在多种抗氧化和自由基清除系统。目前已确定的关键抗氧化通路为 Nrf2-Keap1-ARE, *Keap1* 可通过泛素化降解 *Nrf2*,当 ROS 过度产生导致抗氧化系统平衡被破坏时, *Keap1* 会失活,导致 *Nrf2* 清除受阻,激活 *Nrf2* 并过度积累,造成氧化损伤,然后 *Nrf2* 转移细胞核中调节抗氧化应激相关基因的表达的过程,而 NF- κ B 在抑制氧化应激反应中起到关键作用^[63]。但不同的三唑类农药毒性分子机制差异尚不清晰。因此,本文围绕氧化应激,分别阐述三唑类农药对映异构体之间的毒性差异机制,为今后通过构效关系研究三唑类杀菌剂对斑马鱼的毒性评价和风险评估提供数据。

4 问题与展望

在进行环境安全评估时,缺乏手性因素的考虑是不全面的,必须要考虑三唑类杀菌剂的立体选择性。在对映异构体水平上全面评估毒性风险具有重要意义,对环境和人体健康风险评估提供有利信息。未来手性三唑类杀菌剂研究可以从以下几个方面深入开展。



注：腺嘌呤核糖核苷酸(adenosine monophosphate, AMP)。

图 7 斑马鱼体内氧化应激影响途径示意图^[63]

Fig.7 Schematic diagram of the pathways of oxidative stress in *Danio rerio*^[63]

4.1 完善毒理风险评估过程

手性三唑类杀菌剂对映异构体的长期暴露可能会诱发多种毒性作用，在未来的研究中可以通过使用空间代谢组学的应用对本体及代谢物进行更多的研究。在毒理风险评估过程，可以通过计算机模拟技术从分子结构的角对污染物和潜在靶标蛋白之间的分子互作进行研究，探究污染物的毒理机制。

在评估生态毒性时，由于水生生物的种属和成长阶段(胚胎、幼鱼、稚鱼、成鱼)的差异，故测定一种模式生物或者一个成长阶段是不全面的。在农药安全性评价上，手性农药的立体选择毒性的研究应受到重视，严格限制使用高毒的对映体，推广使用生物活性强低毒的对映体。此外，我们应建立农药使用者培训制度，严格按照农药标注的适用范围、施药方法和剂量去合理使用。

4.2 探究氧化应激与其他毒性效应之间的关联性

关于农药诱导斑马鱼的氧化应激已被广泛研究，但抗氧化酶类和自由基的代谢产物如何发挥作用，关键调控基因表达尚不清晰。从图 7 看出，氧化应激影响途径中对 mTOR 有抑制作用，可聚焦 mTOR 信号通路，研究三唑类杀菌剂对通路上的基因及蛋白的影响，探究具体分子机制。目前，针对氧化应激介导的其他毒性效应研究主要集中在酶活的测定与基因表达上，但它们之间的分子机制尚不清晰。首先，脂质过氧化可能介导氧化损伤，导致其他潜在毒性作用，与发育畸形关系不明确。其次，作为研究神经行为的模

型动物斑马鱼，其大脑易受到氧化应激影响^[3]，且三唑类农药暴露后，斑马鱼神经递质和氧化应激等活动参数同时受到干扰，且关联性较强，故在未来研究中，氧化应激参数和其他毒性效应参数的关联性值得进一步被研究。

4.3 利用斑马鱼模型对抗氧化成分进行评价

斑马鱼作为人体健康评估的模型，可以通过构建斑马鱼的氧化应激模型进行抗氧化成分的活性评价。前期研究表明，斑马鱼的氧化损伤主要表现在器官和组织上，可以筛选食品中天然的抗氧化剂去预防，保护和缓解农药残留导致机体器官的氧化损伤，为接下来的抗氧化相关研究提供新角度。

参考文献

- [1] MACHADO SC, SOUZA BM, AGUIAR MLP, *et al.* Endpoints as human biomarkers in exposure assessment of triazoles fungicides [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2021, 87: 103703.
- [2] HUANG T, ZHAO Y, HE J, *et al.* Endocrine disruption by azole fungicides in fish: A review of the evidence [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 822: 153412.
- [3] CHOI T, CHOI T, LEE Y, *et al.* Zebrafish as an animal model for biomedical research [J]. *Exp Mol Med*, 2021, 53(3): 310–317.
- [4] CHOWDHURY S, SAIKIA SK. Use of zebrafish as a model organism to study oxidative stress: A review [J]. *Zebrafish*, 2022, 19(5): 165–176.
- [5] 李艳红. 氯氟醚菌唑对斑马鱼的对映体选择性毒性效应研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2021.
- LI YH. Enantioselective toxic effect study of clodronate on zebrafish [D]. Hohhot: Inner Mongolia University, 2021.

- [6] MENG Z, LIU L, XI Y, *et al.* Different effects of exposure to penconazole and its enantiomers on hepatic glycolipid metabolism of male mice [J]. *Environ Pollut*, 2020, 257: 113555.
- [7] KAZIEM AE, GAO B, LI L, *et al.* Enantioselective bioactivity, toxicity, and degradation in different environmental mediums of chiral fungicide epoxiconazole [J]. *J Hazard Mater*, 2020, 386: 121951.
- [8] XU C, SUN X, JIN M, *et al.* Maternal exposure to chiral triazole fungicide tebuconazole induces enantioselective thyroid disruption in zebrafish offspring [J]. *Ecotox Environ Saf*, 2023, 251: 114540.
- [9] LIU N, DONG F, XU J, *et al.* Chiral bioaccumulation behavior of tebuconazole in the zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Ecotox Environ Saf*, 2016, 126: 78–84.
- [10] XU P, HUANG L. Stereoselective bioaccumulation, transformation, and toxicity of triadimefon in *insectesmus obliquus* [J]. *Chirality*, 2017, 29(2): 61–69.
- [11] LI L, GAO B, WEN Y, *et al.* Stereoselective bioactivity, toxicity and degradation of the chiral triazole fungicide bitertanol [J]. *Pest Manag Sci*, 2020, 76(1): 343–349.
- [12] 刘娜. 戊唑醇等 3 种典型三唑类手性农药在斑马鱼中的选择性生物富集及生物毒性差异[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.
- LIU N. Selective bioaccumulation and biotoxicity differences of 3 typical triazole chiral pesticides including tebuconazole in zebrafish [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2016.
- [13] PAN X, CHENG Y, DONG F, *et al.* Stereoselective bioactivity, acute toxicity and dissipation in typical paddy soils of the chiral fungicide propiconazole [J]. *J Hazard Mater*, 2018, 359: 194–202.
- [14] LI Y, NIE J, ZHANG J, *et al.* Chiral fungicide penconazole: Absolute configuration, bioactivity, toxicity, and stereoselective degradation in apples [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 808: 152061.
- [15] ZHANG A, XIE X, LIU W. Enantioselective separation and phytotoxicity on rice seedlings of paclobutrazol [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(8): 4300–4305.
- [16] ZHANG Q, HUA X, SHI H, *et al.* Enantioselective bioactivity, acute toxicity and dissipation in vegetables of the chiral triazole fungicide flutriafol [J]. *J Hazard Mater*, 2015, 284: 65–72.
- [17] LIU T, FANG K, LIU Y, *et al.* Enantioselective residues and toxicity effects of the chiral triazole fungicide hexaconazole in earthworms (*Eisenia fetida*) [J]. *Environ Pollut*, 2021, 270: 116269.
- [18] TAKANO H, OGURI Y, KATO T. Antifungal and plant growth regulating activities of enantiomers of (*E*)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1,2,4-triazol-1-yl)-1-penten-3-ol (s-33081) [J]. *J Pestic Sci*, 1986, 11(3): 373–378.
- [19] HE Z, ZHOU L, TAN Y, *et al.* Stereoselective toxicity, bioaccumulation, and metabolic pathways of triazole fungicide cyproconazole in zebrafish [J]. *Aquat Toxicol*, 2022, 253: 106330.
- [20] HE R, GUO D, LIN C, *et al.* Enantioselective bioaccumulation, oxidative stress, and thyroid disruption assessment of cis-metconazole enantiomers in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Aquat Toxicol*, 2022, 248: 106205.
- [21] ZHANG Z, GAO B, HE Z, *et al.* Stereoselective bioactivity of the chiral triazole fungicide prothioconazole and its metabolite [J]. *Pest Biochem Phys*, 2019, 160: 112–118.
- [22] LI L, SUN X, ZHAO X, *et al.* Absolute configuration, enantioselective bioactivity, and degradation of the novel chiral triazole fungicide mefentrifluconazole [J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(17): 4960–4967.
- [23] WANG J, GAO X, LIU F, *et al.* Difenoconazole causes cardiotoxicity in common carp (*Cyprinus carpio*): Involvement of oxidative stress, inflammation, apoptosis and autophagy [J]. *Chemosphere*, 2022, 306: 135562.
- [24] PARK J, HONG T, AN G, *et al.* Triadimenol promotes the production of reactive oxygen species and apoptosis with cardiotoxicity and developmental abnormalities in zebrafish [J]. *Sci Total Environ*, 2023, 862: 160761.
- [25] 穆希岩. 苯醚甲环唑对斑马鱼毒性及作用机制研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- MU XY. A study of the toxicity and mechanism of action of difenoconazole in zebrafish [D]. Beijing: China Agricultural University, 2015.
- [26] 郭晶, 宋文华, 丁峰. 三唑类杀菌剂对斑马鱼急性毒性研究[J]. 东南大学学报(医学版), 2010, 29(4): 402–406.
- GUO J, SONG WH, DING F. Acute toxicity study of triazole fungicides on zebrafish [J]. *Southeast Univ J*, 2010, 29(4): 402–406.
- [27] HERMSEN SAB, PRONK TE, BRANDHOF E, *et al.* Concentration-response analysis of differential gene expression in the zebrafish embryotoxicity test following flusilazole exposure [J]. *Toxicol Sci*, 2012, 127(1): 303–312.
- [28] 孔伟浩. 果树常用杀菌剂氟硅唑对斑马鱼的影响[D]. 海口: 海南大学, 2018.
- KONG WH. Effect of flusilazole, a common fruit tree fungicide, on zebrafish [D]. Haikou: Hainan University, 2018.
- [29] ZHAO F, CAO F, LI H, *et al.* The effects of a short-term exposure to propiconazole in zebrafish (*Danio rerio*) embryos [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2020, 27(30): 38212–38220.
- [30] TENG M, ZHAO F, ZHOU Y, *et al.* Effect of propiconazole on the lipid metabolism of zebrafish embryos (*Danio rerio*) [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(16): 4623–4631.
- [31] SUN Y, CAO Y, TONG L, *et al.* Exposure to prothioconazole induces developmental toxicity and cardiovascular effects on zebrafish embryo [J]. *Chemosphere*, 2020, 251: 126418.
- [32] 郭宝元, 张洋, 王松雪. 丙硫菌唑对斑马鱼的安全性评价及其生物富集行为研究[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(6): 311–316.
- GUO BY, ZHANG Y, WANG SX. Study on the safety evaluation and bioaccumulation behavior of propionazole on zebrafish [J]. *J Ecotoxicol*, 2019, 14(6): 311–316.
- [33] JIA M, TENG M, TIAN S, *et al.* Effects of penconazole enantiomers exposure on hormonal disruption in zebrafish *Danio rerio* (hamilton, 1822) [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2021, 28(32): 43476–43482.
- [34] 喻亮. 三种三唑类杀菌剂对斑马鱼的内分泌干扰效应研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- YU L. Study on endocrine disrupting effects of three triazole fungicides on zebrafish [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.
- [35] LI S, JIANG Y, SUN Q, *et al.* Tebuconazole induced oxidative stress related hepatotoxicity in adult and larval zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Chemosphere*, 2020, 241: 125129.
- [36] BEN OY, MONCEAUX K, BELHADEF A, *et al.* Triazole fungicide tebuconazole induces apoptosis through ROS-mediated endoplasmic reticulum stress pathway [J]. *Environ Toxicol Phar*, 2022, 94: 103919.
- [37] 叶茵茵[Z]. 2019.
- Pyrazol [Z]. 2019.
- [38] PANG S, GUO M, ZHANG X, *et al.* Myclobutanil developmental toxicity, bioconcentration and sex specific response in cholesterol in zebrafish

- (*Danio rerio*) [J]. Chemosphere, 2020, 242: 125209.
- [39] QIU L, JIA K, HUANG L, *et al.* Hepatotoxicity of tricyclazole in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Chemosphere, 2019, 232: 171–179.
- [40] JIA M, WANG Y, WANG D, *et al.* The effects of hexaconazole and epoxiconazole enantiomers on metabolic profile following exposure to zebrafish (*Danio rerio*) as well as the histopathological changes [J]. Chemosphere, 2019, 226: 520–533.
- [41] CAO F, SOUDERS CL, LI P, *et al.* Developmental toxicity of the triazole fungicide cyproconazole in embryo-larval stages of zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Environ Sci Pollut Res, 2019, 26(5): 4913–4923.
- [42] DING F, SONG WH, GUO J, *et al.* Oxidative stress and structure-activity relationship in the zebrafish (*Danio rerio*) under exposure to paclobutrazol [J]. J Environ Sci Health, 2008, 44(1): 44–50.
- [43] GUO D, HE R, LUO L, *et al.* Enantioselective acute toxicity, oxidative stress effects, neurotoxicity, and thyroid disruption of uniconazole in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Environ Sci Pollut Res, 2022, 29(26): 40157–40168.
- [44] JIA M, TENG M, TIAN S, *et al.* Developmental toxicity and neurotoxicity of penconazole enantiomers exposure on zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Environ Pollut, 2020, 267: 115450.
- [45] 葛婧, 蒋金花, 蔡磊明. 3 种三唑类杀菌剂对斑马鱼的毒性研究[J]. 浙江农业学报, 2018, 30(5): 744–755.
- GE J, JIANG JH, CAI LM. Toxicity study of 3 triazole fungicides on zebrafish [J]. Zhejiang Agric J, 2018, 30(5): 744–755.
- [46] KUMAR N, AWOYEMI O, WILLIS A, *et al.* Comparative lipid peroxidation and apoptosis in embryo-larval zebrafish exposed to 3 azole fungicides, tebuconazole, propiconazole, and myclobutanil, at environmentally relevant concentrations [J]. Environ Toxicol Chem, 2019, 38(7): 1455–1466.
- [47] VALADAS J, MOCELIN R, SACHETT A, *et al.* Propiconazole induces abnormal behavior and oxidative stress in zebrafish [J]. Environ Sci Pollut Res, 2019, 26(27): 27808–27815.
- [48] DESTA B, AMARE G. Paclobutrazol as a plant growth regulator [Z]. 2021.
- [49] LIU C, LIU S, DIAO J. Enantioselective growth inhibition of the green algae (*Chlorella vulgaris*) induced by two paclobutrazol enantiomers [J]. Environ Pollut, 2019, 250: 610–617.
- [50] WU C, SUN J, ZHANG A, *et al.* Dissipation and enantioselective degradation of plant growth retardants paclobutrazol and uniconazole in open field, greenhouse, and laboratory soils [J]. Environ Sci Technol, 2013, 47(2): 843–849.
- [51] GUO D, LUO L, KONG Y, *et al.* Enantioselective neurotoxicity and oxidative stress effects of paclobutrazol in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Pestic Biochem Phys, 2022, 185: 105136.
- [52] LIU F, LUO Q, ZHANG Y, *et al.* Trans-generational effect of neurotoxicity and related stress response in *Caenorhabditis elegans* exposed to tetrabromobisphenol A [J]. Sci Total Environ, 2020, 703: 134920.
- [53] 王瑶. 三种三唑类手性农药在斑马鱼体内的生物富集行为和毒性效应研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2017.
- WANG Y. Bioconcentration behavior and toxic effect study of three triazole chiral pesticides in zebrafish [D]. Beijing: China Agricultural University, 2017.
- [54] WENG Y, HUANG Z, WU A, *et al.* Embryonic toxicity of epoxiconazole exposure to the early life stage of zebrafish [J]. Sci Total Environ, 2021, 778: 146407.
- [55] WANG Y, TENG M, WANG D, *et al.* Enantioselective bioaccumulation following exposure of adult zebrafish (*Danio rerio*) to epoxiconazole and its effects on metabolomic profile as well as genes expression [J]. Environ Pollut, 2017, 229: 264–271.
- [56] WANG Y, XU L, LI D, *et al.* Enantioselective bioaccumulation of hexaconazole and its toxic effects in adult zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Chemosphere, 2015, 138: 798–805.
- [57] SHEN J, LIU P, SUN Y, *et al.* Embryonic exposure to prothioconazole induces oxidative stress and apoptosis in zebrafish (*Danio rerio*) early life stage [J]. Sci Total Environ, 2021, 756: 143859.
- [58] ZHAI W, ZHANG L, CUI J, *et al.* The biological activities of prothioconazole enantiomers and their toxicity assessment on aquatic organisms [J]. Chirality, 2019, 31(6): 468–475.
- [59] ZHANG Z, ZHANG J, ZHAO X, *et al.* Stereoselective uptake and metabolism of prothioconazole caused oxidative stress in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. J Hazard Mater, 2020, 396: 122756.
- [60] 刘松岩, 李大鹏, 庄平. 水生动物氧化应激生物标志物的研究进展[J]. 水利渔业, 2006, (1): 16–19.
- LIU SY, LI DP, ZHUANG P. Research progress on biomarkers of oxidative stress in aquatic animals [J]. Water Conserv Fish, 2006, (1): 16–19.
- [61] MA D, YU H, CUI G, *et al.* Exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to trans-2-hexenal induces oxidative stress and protein degeneration of the gill [J]. Sci Total Environ, 2023, 854: 158813.
- [62] QIN Y, WANG X, YAN X, *et al.* Developmental toxicity of fenbuconazole in zebrafish: Effects on mitochondrial respiration and locomotor behavior [J]. Toxicology, 2022, 470: 153137.
- [63] WOJTCZYK-MIAKOWSKA A, SCHLICHTHOLZ B. DNA damage and oxidative stress in long-lived aquatic organisms [J]. DNA Repair, 2018, 69: 14–23.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)

作者简介



闫志惠, 硕士研究生, 主要研究方向为农产品质量与安全。

E-mail: 810029503@qq.com



魏宝东, 博士, 副教授, 主要研究方向为果蔬采后生物学与贮运保鲜。

E-mail: bdweisyau@163.com



李敏敏, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: liminmin@caas.cn