

焦虑对雌性成年斑马鱼热耐受和游泳能力的影响

李小红 付成 付世建

ANXIETY ON THERMAL TOLERANCE AND SWIMMING ABILITY IN FEMALE ADULT ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*)

LI Xiao-Hong, FU Cheng, FU Shi-Jian

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2024.2024.0080>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

甲基转移酶*set9*缺失的斑马鱼低氧耐受能力增强

DELETION OF METHYLTRANSFERASE *SET9* ENHANCES HYPOXIA TOLERANCE IN ZEBRAFISH

水生生物学报. 2021, 45(5): 951–957 <https://doi.org/10.7541/2021.2020.106>

两种抗雌激素药物对雌性斑马鱼脂肪代谢的影响

EFFECTS OF TWO ANTI-ESTROGEN DRUGS EXPOSURE ON LIPID METABOLISM OF FEMALE ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*)

水生生物学报. 2017, 41(1): 95–100 <https://doi.org/10.7541/2017.12>

捕食驯化对胭脂鱼和中华倒刺游泳行为、应激和免疫功能的影响

THE EFFECT OF PREDATION ACCLIMATION ON SWIMMING BEHAVIOR, STRESS AND IMMUNE RESPONSES OF JUVENILE *MYXOCYPRINUS ASIATICUS* AND *SPINIBARBUS SINENSIS*

水生生物学报. 2021, 45(5): 1112–1119 <https://doi.org/10.7541/2021.2020.015>

温度驯化对尖头热耐受特征的影响

水生生物学报. 2017, 41(3): 538–542 <https://doi.org/10.7541/2017.69>

不同链长脂肪酸对斑马鱼的性腺脂肪酸组成、繁殖力与仔鱼成活率的影响

INFLUENCE OF FATTY ACIDS WITH DIFFERENT CHAIN LENGTH ON FATTY ACID COMPOSITION OF OVARIES, FECUNDITY AND SURVIVAL RATE OF LARVAE IN ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*)

水生生物学报. 2017, 41(4): 766–773 <https://doi.org/10.7541/2017.95>

游泳加速模式对团头鲂和南方鲇的最大游泳速度及运动代谢的影响

EFFECTS OF ACCELERATION MODES ON MAXIMUM SWIMMING SPEED AND ACTIVITY METABOLISM IN *MEGALOBrama AMBLYCEPHALA* AND *SILURUS MERIDIONALIS*

水生生物学报. 2020, 44(3): 603–611 <https://doi.org/10.7541/2020.074>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2024.2024.0080

焦虑对雌性成年斑马鱼热耐受和游泳能力的影响

李小红 付成 付世建

(重庆师范大学进化生理与行为学实验室, 淡水鱼类资源保护与利用重庆市重点实验室, 重庆 401331)

摘要: 为研究焦虑对鱼类热耐受和游泳能力的影响, 以雌性成年斑马鱼(*Danio rerio*)为研究对象, 将实验鱼随机分为焦虑组和对照组, 焦虑组通过2周慢性不可预测应激(Unpredictable chronic stress, UCS)处理建立焦虑斑马鱼模型, 对照组不做任何处理。2周后测定两组实验鱼的焦虑行为相关指标、全身皮质醇及雌二醇水平, 热耐受[临界高温(CT_{max})、临界低温(CT_{min})、致死高温(LT_{max})和致死低温(LT_{min})]及游泳能力(最大匀加速游泳速度, U_{cat})。结果显示: 焦虑组实验鱼的焦虑水平、皮质醇水平显著高于对照组($P<0.01$), 雌二醇水平显著低于对照组($P<0.01$); 焦虑组实验鱼的 CT_{min} 显著高于对照组($P<0.01$), LT_{min} 高于对照组($P<0.05$), 但两组实验鱼的 CT_{max} 、 LT_{max} 和 U_{cat} 差异无统计学意义($P>0.05$)。研究表明: 2周UCS处理能建立焦虑斑马鱼模型, 焦虑引起的雌性成年斑马鱼雌激素分泌减少可能对斑马鱼后期的繁殖产生消极影响; 另外, 焦虑降低了斑马鱼的低温耐受能力, 可能与皮质醇水平升高和焦虑导致的体质下降有关。

关键词: 焦虑; 热耐受; 最大匀加速游泳速度; 慢性不可预测应激; 斑马鱼

中图分类号: Q178.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2024)09-1566-07



温度是影响鱼类分布、繁殖和生存的重要非生物因素之一^[1, 2]。近年来由于全球气候变化、局部地区极端天气频发、水利工程建设和其他人类活动干扰等, 水体温度状况发生了显著变化^[2-4]。热耐受能力是动物适应气候变化的重要能力之一^[5], 反映其在特定生理状态下、特定温度范围内的生存能力^[6]。鱼类的热耐受能力受多种因素的影响, 如饥饿、运动、个体大小及驯化温度等^[7-9], 常以临界高温(The critical thermal maximum, CT_{max})、临界低温(Critical thermal minimum, CT_{min})、致死高温(Lethal thermal maximum, LT_{max})和致死低温(Lethal thermal minimum, LT_{min})来评价^[10, 11]。鱼类通过游泳运动完成觅食和逃避敌害等重要日常生命活动^[5]。鱼类的游泳运动根据对氧气的需求与否则可分为有氧和无氧两种类型, 其中无氧运动与避敌、穿越激流和穿梭复杂生境能力关系密切^[12], 而最大匀加速游泳速度(U_{cat})是评价鱼类无氧运动能力的重要指标^[13]。因此, 鱼类的热耐受能力、游泳能力对个体生存和种群繁衍均具有重要意义。

焦虑是动物面对竞争、敌害或潜在威胁时最典型、最重要的应激反应之一^[14]。研究显示, 焦虑对动物生理和行为有双重影响, 急性应激诱导的焦虑是一种适应反应, 有积极的作用, 如提高警觉性和注意力以应对不利威胁, 但长期或严重的应激暴露导致的焦虑可能影响动物正常的生理和行为活动^[15, 16]。焦虑行为还存在性别差异, 雌性动物通常较雄性更容易焦虑且程度更严重, 这可能与激素调节有关^[17, 18]。目前关于鱼类焦虑行为的研究主要集中在各类因素的致焦虑或抗焦虑作用方面, 如应激(渗透压、光周期)、药物(致焦虑、抗焦虑药物)和环境污染(重金属、抗生素等)等^[14, 15, 19, 20]。然而, 从个体生存和种群繁衍角度而言, 焦虑是否会影响鱼类的环境(温度等)适应能力和避敌能力(游泳能力)等研究鲜有报道。

斑马鱼(*Danio rerio*)是一种常见的小型热带淡水鱼类, 性别二态性显著, 其因成本低廉、繁殖周期快和行为模式成熟等而成为神经行为学和行为生态学研究广泛应用的动物模型^[20, 21]。研究显

收稿日期: 2024-04-15; 修订日期: 2024-04-22

基金项目: 国家自然科学基金(32370509)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (32370509)]

作者简介: 李小红(1986—), 女, 博士研究生; 研究方向为鱼类行为学。E-mail: 695923586@qq.com

通信作者: 付世建(1973—), 男, 博士; 主要研究方向为鱼类生理生态学。E-mail: shijianfu9@cqu.edu.cn

示 2 周的慢性不可预测应激(Unpredictable chronic stress, UCS)会导致斑马鱼出现焦虑行为^[22, 23]。故本研究通过UCS处理建立焦虑斑马鱼模型, 研究焦虑对雌性成年斑马鱼热耐受和游泳能力的影响, 为探究焦虑对鱼类生存和种群进化的影响提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究所用的实验材料为雌性成年(4—6月龄)斑马鱼, 是从国家斑马鱼资源中心购买的AB系亲鱼繁殖的子一代, 养殖在实验室斑马鱼养殖系统(长45 cm×宽35 cm×高30 cm)中。光周期14L:10D, 水温为(28±0.5)℃, 溶氧量>7 mg/L。每日9:00和17:00按约2%体重/次的喂食量分别喂食丰年虫和颗粒饲料(山东升索饲料科技有限公司)1次, 投喂前关闭水阀和充气泵, 投喂1h后用虹吸管清除水中残余饲料和粪便, 以保持水体清洁。实验用斑马鱼遵循重庆师范大学动物伦理规范。

1.2 分组及暴露方式

挑选60尾体型大小相近的实验鱼[体重(0.57±0.16) g, 体长(2.89±0.16) cm]随机分为2组: 焦虑组(Anxiety group)和对照组(Control group), 每组30尾。焦虑组进行2周UCS处理^[22, 23]建立焦虑动物模型(表 1), 对照组保持原有条件饲养。在实验期间, 焦虑组除UCS处理外, 其余饲养条件与对照组相同。在处理结束后禁食24h进行焦虑行为、热耐受能力和游泳能力测试。

1.3 实验方法

焦虑行为评价 通过新缸潜水实验(Novel tank diving test)评价斑马鱼的焦虑行为^[24, 25]。测定装置为矩形水缸(长29 cm×宽10 cm×高15 cm), 对实验鱼而言为陌生环境。装水至水深10 cm, 分为上下两个区域(分别高5 cm), 在水缸正前方50 cm处安置一个连接电脑的高清广角摄像头(Logitech Webcam Pro9000, 1080×720 p), 将实验斑马鱼由循环养殖系统转移至行为拍摄室, 适应5min后再放入新水缸测试, 测试时长6min, 测试过程中拍摄视频记录斑马

鱼的行为轨迹。利用人工观察视频分析斑马鱼6min内: (1)上下层穿梭次数(Transitions in upper half); (2)进入顶层潜伏时间(Latency to upper half); (3)顶层停留时间占比(Proportion of time in upper half); (4)冻结潜伏时间(Latency before Freezing, 冻结指实验鱼在2s或更长的时间保持不动); (5)冻结次数(Freezing bouts); (6)冻结持续时间占比(Proportion of freezing time); (7)不稳定运动次数(Erratic movements, 不稳定运动指方向或速度的突然变化和快速的游泳行为), 以评价各组实验鱼的焦虑行为。

热耐受能力测定 焦虑行为测试结束后每组随机选择16尾鱼(高温耐受和低温耐受各8尾)采用临界温度法^[26]测定热耐受能力。测定装置为50 L容器, 内置4个单元格(细铁丝网围制, 长11.5 cm×宽9.5 cm×高15 cm), 每次可测定4尾鱼。装置内水温28℃, 溶氧>7 mg/L, 升温/降温前将斑马鱼分别放入单元格中适应1h。适应结束后通过冷水机(1.5 P)或可调功率加热棒(3000 W)以0.3℃/min的速率进行匀速降温或升温, 期间通过充气泵持续充气, 保证实验水体内氧含量充足。使用精密温度计监控水温变化, 以实验鱼第一次失去平衡时的温度作为CT_{max}或CT_{min}; 鳃盖停止呼吸10s并对尾部刺激无反应时的温度为LT_{max}或LT_{min}^[10]。

游泳能力测定 使用Blazka式鱼类游泳测定仪测定U_{cat}^[27, 28], 每组10尾鱼。测定方法简要介绍如下: 将单尾实验鱼转入仪器中适应1h, 仪器中水流速度约为3 cm/s (约1倍实验鱼体长/s)。随后, 将仪器中的水流速度以0.167 cm/s²的恒定加速度持续增加, 直至实验鱼无法向前游泳, 并停留在仪器末端时停止实验, 此时的流速即为鱼的U_{cat}值。

皮质醇及雌二醇水平测定 游泳能力测试完成后将两组实验鱼各10尾分别放回养殖系统中恢复24h, 随后检测全鱼的皮质醇及雌二醇水平^[28, 29]。使用过量麻醉剂(MS222, 0.1 g/L)将实验鱼麻醉致死放入冻存管中, 转移至-80℃冰箱保存备用。检测时解冻并剪切标本, 按照每10 mg标本100 μL PBS溶液的比例加入PBS后匀浆, 匀浆后在3000 r/

表 1 斑马鱼慢性不可预测应激处理方案^[22, 23]

Tab. 1 Procedure of the unpredictable chronic stress protocol in zebrafish

周次 Week	星期一 Monday	星期二 Tuesday	星期三 Wednesday	星期四 Thursday	星期五 Friday	星期六 Saturday	星期日 Sunday
第一周Week 1	上午9:00 身体约束 下午2:00 高温胁迫	上午10:00 社会隔离 下午4:00 低温胁迫	上午10:30 拥挤胁迫 下午1:30 捕食者胁迫	上午9:00 低水位胁迫 下午3:00 更换鱼缸	上午8:00 低温胁迫 下午2:00 拥挤胁迫	上午11:00 更换鱼缸 下午5:30 追赶	上午8:00 高温胁迫 中午12:00 社会隔离
第二周Week 2	上午10:00 更换鱼缸 下午4:00 更换鱼缸	上午11:00 捕食者胁迫 下午2:30 高温胁迫	上午10:30 低水位胁迫 下午3:00 追赶	上午8:00 更换鱼缸 下午1:00 拥挤胁迫	上午9:30 身体约束 下午5:00 低水位胁迫	上午8:30 社会隔离 下午1:00 低温胁迫	上午9:00 更换鱼缸 下午0:30 追赶

min下离心20min,取50 μ L上清液,用ELISA商业试剂盒(江苏,酶科)检测全鱼皮质醇及雌二醇水平。

1.4 统计学方法

采用SPSS22.0统计软件对数据进行统计分析,符合正态分布的数据以平均值 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SD)描述,偏态分布数据用中位数(四分位数间距)[M(Q)]描述。采用独立样本 t 检验比较两组热耐受能力、游泳能力和皮质醇水平等,采用秩和检验比较两组焦虑行为相关指标,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体重、体长、肥满度比较

焦虑组在UCS处理过程中有1尾实验鱼死亡,对照组无实验鱼死亡,UCS处理结束时两组实验鱼的体重、体长和肥满度均无统计学差异($P>0.05$),见表2。

表2 UCS处理结束时斑马鱼体重、体长和肥满度比较

Tab. 2 Comparison of body weight, length, and condition factor of zebrafish at the end of UCS treatment

项目Item	样本量 Simple size	体重 Body weight (g)	体长 Body length (cm)	肥满度 Condition factor (g/cm ³)
对照组 Control group	30	0.63 $\pm$ 0.20	3.10 $\pm$ 0.31	2.08 $\pm$ 0.46
焦虑组 Anxiety group	29	0.61 $\pm$ 0.18	3.07 $\pm$ 0.31	2.11 $\pm$ 0.51
t		0.404	0.380	-0.253
P		0.588	0.705	0.801

2.2 焦虑相关指标比较

在新缸潜水实验中焦虑组实验鱼进入鱼缸顶层潜伏时间、冻结持续时间占比显著大于对照组($P<0.01$; 图1A和1F),不稳定运动次数大于对照组($P<0.05$; 图1G),上下层穿梭次数和顶层停留时间占比显著小于对照组($P<0.01$; 图1B和1C),而两组的冻结潜伏时间、冻结次数差异无统计学意义($P>0.05$; 图1D和1E);焦虑组的全身皮质醇水平显著高于对照组($P<0.01$; 图1H),雌二醇水平显著低于对照组($P<0.01$; 图1I)。

2.3 热耐受能力比较

焦虑组CT_{min}显著高于对照组($P<0.01$; 图2A),LT_{min}高于对照组($P<0.05$; 图2B);两组之间的CT_{max}和LT_{max}差异无统计学意义($P>0.05$; 图2C和2D)。

2.4 U_{cat}比较

焦虑组和对照组U_{cat}无统计学差异($P>0.05$; 图3)。

3 讨论

3.1 两周UCS处理能建立焦虑雌性成年斑马鱼模型

鱼类焦虑时主要表现为在新缸潜水实验中顶

层探索时间占比减少,冻结的时间占比增加和皮质醇水平升高等^[22,25]。本研究发现经过2周UCS处理后雌性成年斑马鱼在顶层停留的时间占比、上下穿梭次数减少,冻结时间占比、不稳定运动次数增加,全身皮质醇水平也显著升高,与Piato等^[22]的研究结果一致,说明通过为期2周的UCS处理,成功建立了焦虑斑马鱼模型。在自然环境中,鱼类面临着一系列生理、社会和环境压力,例如气候变化、捕食者压力、栖息地丧失及化学污染等^[30]。本研究采用的UCS处理包括高温和低温胁迫、捕食者胁迫、社会隔离及低水位胁迫等应激处理,模拟了鱼类在自然环境中可能面临的致焦虑应激源。关于其引发焦虑的机制,可能涉及慢性应激对下丘脑-垂体-肾上腺轴的激活,导致促肾上腺皮质激素释放因子和皮质醇水平的增加等^[33,34]。实验结束时两组实验鱼的体重、体长、肥满度无显著差异,说明2周的UCS处理导致的焦虑是一种情绪/情感适应不良,对实验鱼造成的直接身体伤害较小,提示实验鱼的体重、体长、肥满度等直观指标在反映鱼类健康状况上存在局限性。研究显示,雌性个体相较于雄性个体更容易产生焦虑,这可能与激素水平的差异有关^[17,18]。因此,本研究着重比较了两组实验鱼的雌激素水平。结果显示,在进行了为期2周的UCS处理后,焦虑组实验鱼的雌激素水平明显下降。这一发现可以推测焦虑可能对雌性斑马鱼未来的繁殖产生消极影响。

3.2 焦虑对热耐受能力的影响

目前关于鱼类热耐受机制的研究主要涉及心鳃系统学说^[35]、耐受性法则^[36]及氧和温度限制的代谢生态位理论^[37]等假说。这些假说认为,鱼类的低温耐受能力主要受到神经调节的影响,与酶活性、膜的流动性及体内能量物质积累等因素密切相关^[38,39]。而高温耐受能力则与心室大小、心脏功能及肌红蛋白水平等因素有关^[42]。本研究显示,UCS暴露导致的焦虑降低了雌性斑马鱼的低温耐受能力,但对其高温耐受能力没有影响。Deng等^[43]研究发现UCS处理会增加斑马鱼体内IL-6等炎症因子水平,这可能导致焦虑组实验鱼的体质下降;同时皮质醇水平的上升代表下丘脑-垂体-肾上腺轴被激活会造成能量代谢水平的提高^[33,34],这些因素都可能对热耐受能力产生不利影响,但其具体的内在机制还需要进一步研究。需要注意的是,尽管UCS处理包含了高温和低温胁迫处理,以往的研究显示高温和低温驯化会导致热休克蛋白水平的升高,从而提高鱼类热耐受能力^[26]。然而,本研究中焦虑组实验鱼的热耐受能力反而下降,这表明UCS暴露中

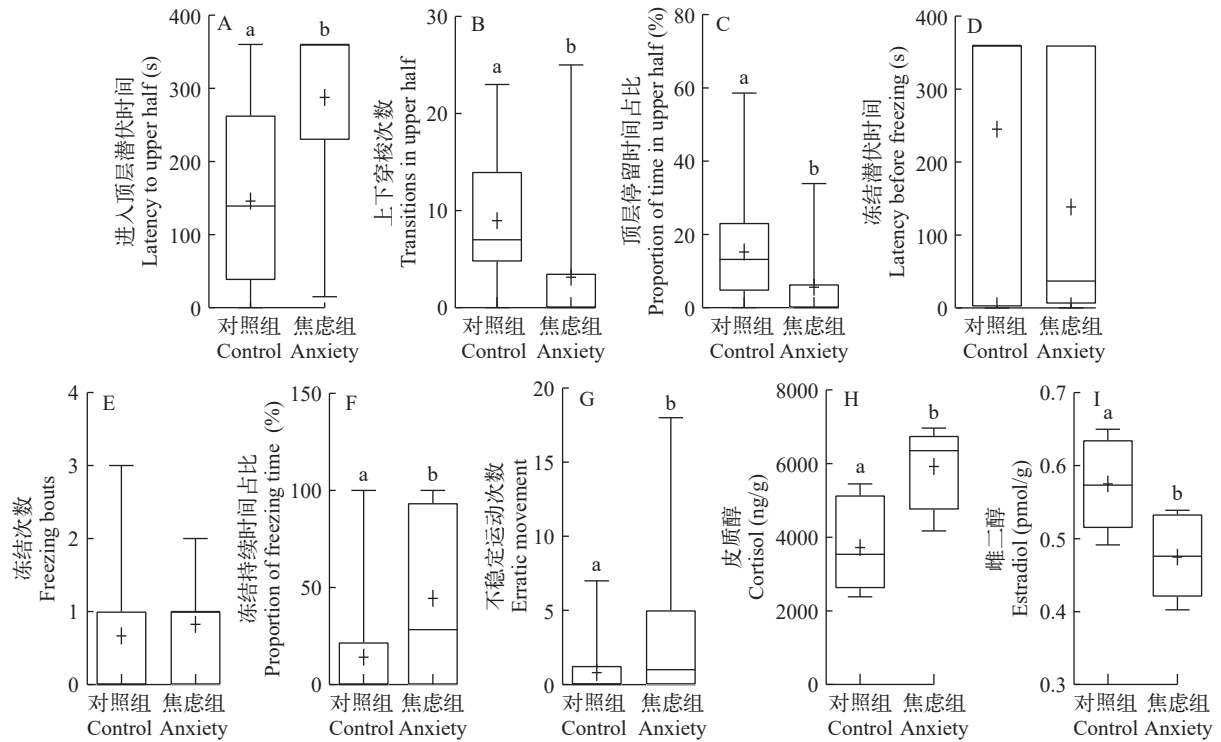


图 1 焦虑相关行为指标及全身皮质醇、雌二醇水平比较

Fig. 1 Comparative analysis of anxiety-related behavioral indices and systemic levels of cortisol and estradiol

A—G. 对照组 $n=29$, 焦虑组 $n=30$; H—I. $n=10$; a和b表示两组实验鱼之间差异有统计学意义($P<0.05$)

A—G. Control group $n=29$, Anxiety group $n=30$; H—I. $n=10$; a and b indicate statistically significant differences between the two groups of experimental fish ($P<0.05$)

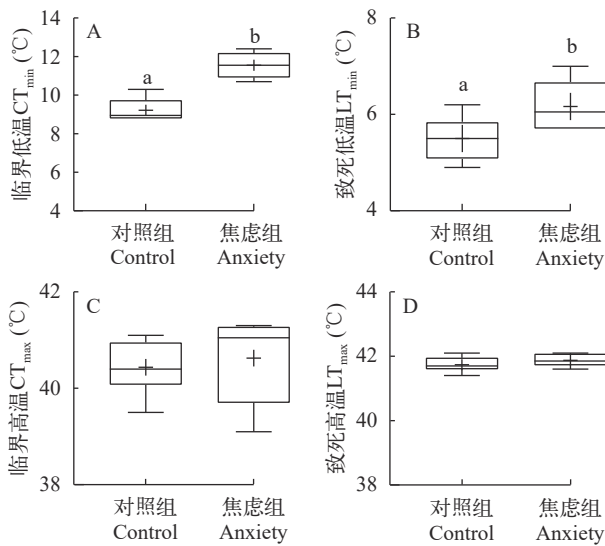


图 2 热耐受能力比较

Fig. 2 Comparison of thermal tolerance ($n=8$)

a和b表示两组实验鱼之间差异有统计学意义($P<0.05$)

a and b indicate statistically significant differences between the two groups of experimental fish ($P<0.05$)

短暂的高温和低温胁迫处理并未产生温度驯化效应。现有研究表明, 焦虑对动物的生存产生着双重效应^[15, 16]。急性应激诱导的焦虑被认为是一种适

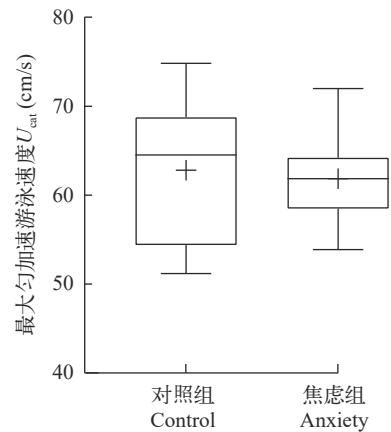


图 3 最大匀加速游泳速度(U_{cat})比较

Fig. 3 Comparison of U_{cat} ($n=10$)

应性反应, 但长期或严重的应激暴露可能会对动物的正常生理和行为活动产生不利影响^[15, 16]。然而, 本研究中2周UCS暴露诱导的焦虑对实验鱼的低温耐受能力产生了不利影响, 说明其代表了一种长期或严重的应激压力, 提示研究者在探究长期应激导致的焦虑对鱼类生理和行为的影响时可以参考该模型。

3.3 焦虑对游泳能力的影响

在自然界中, 游泳与鱼类的觅食、避敌及栖息

地选择等日常生命活动息息相关,因此游泳能力成为反映鱼类生存适合度的重要指标^[43-45]。长期应激导致的焦虑可能会造成鱼类能量代谢增加,体质以及免疫力下降^[41],进而对游泳能力产生消极影响。Christou等^[46]的研究发现,持久性有机污染物混合物和全氟辛烷磺酸盐对斑马鱼的焦虑行为没有影响,却对它们的游泳能力产生了负面影响,因此并未得出焦虑与游泳能力直接相关的证据。本研究中2周的UCS处理导致的焦虑未影响雌性成年斑马鱼的游泳能力。这可能因为本研究考查的游泳能力 U_{cat} 为无氧运动能力^[13]。长期应激导致的基础代谢水平增加会占用部分有氧代谢空间,进而可能会导致有氧运动能力的降低,但对无氧运动影响较小^[47],因此本研究中焦虑未导致实验鱼 U_{cat} 的显著降低。Zhang等^[48]研究发现,纳米塑料和砷两种有毒污染物增加了斑马鱼的焦虑水平,并降低了它们的游泳能力,与本研究结果不同,可能与该研究以平均游泳速度评价游泳能力而与本研究评价指标不同有关,且不同研究中诱导焦虑的应激源、暴露时间等存在差异,因此导致实验鱼的焦虑水平也可能不同。此外,研究表明 U_{cat} 是与鱼类逃避天敌等密切相关的游泳能力,可塑性较低^[12],这也是本研究未观察到焦虑对游泳能力影响的可能原因之一。

综上,本研究发现焦虑降低了雌性成年斑马鱼的低温耐受能力,对高温耐受能力和游泳能力没有影响,说明焦虑可能对鱼类的温度适应性产生不利影响,同时焦虑引起的雌性成年斑马鱼雌激素分泌减少可能对斑马鱼后期的繁殖产生消极影响。建议在实验动物福利等方面将动物情绪作为考虑因素,可通过规避致焦虑因素,如通过维持饲养温度的稳定性、避免出现社会隔离等减少焦虑情绪,最终提高其环境适应能力。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Xiong W, Zhu Y, Zhang P, *et al.* Effects of temperature on metabolic scaling in silver carp [J]. *Journal of Experimental Zoology Part A, Ecological and Integrative Physiology*, 2022, **337**(2): 141-149.
- [2] Liu D, Zhu B, Liang Q, *et al.* High temperatures enhance the strength of multiple predator effects in a typical crab-clam system [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2023(188): 114670.
- [3] Li W X, Fu S J, Qin L P, *et al.* Thermal tolerances and collective behavior during water temperature rising in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, **46**(6): 856-864. [李武新, 付世建, 秦丽萍, 等. 个体大小对草鱼耐高温能力及升温过程中群体行为的影响 [J]. *水生生物学报*, 2022, **46**(6): 856-864.]
- [4] Qin Y L, Bai Y, Fu K K, *et al.* The metabolize response of different physiological performances to decreased temperature in *Spinibarbus sinensis* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, **37**(15): 5179-5188. [覃英莲, 柏杨, 付康康, 等. 中华倒刺鲃不同生理性能对降温的响应速率 [J]. *生态学报*, 2017, **37**(15): 5179-5188.]
- [5] Wang Y S, Cao Z D, Fu S J, *et al.* Thermal tolerance of juvenile *Silurus meridionalis* Chen [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2008, **27**(12): 2136-2140. [王云松, 曹振东, 付世建, 等. 南方鲇幼鱼的热耐受特征 [J]. *生态学杂志*, 2008, **27**(12): 2136-2140.]
- [6] Underwood Z E, Myrick C A, Rogers K B. Effect of acclimation temperature on the upper thermal tolerance of Colorado River cutthroat trout *Oncorhynchus clarkii pleuriticus*: thermal limits of a North American salmonid [J]. *Journal of Fish Biology*, 2012, **80**(7): 2420-2433.
- [7] Zhang Y F, Huang K R, Luo Y L, *et al.* Exhaustion exercise stress on hypoxia and thermal tolerances of three cyprinid species [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, **47**(12): 1986-1992. [张永飞, 黄可人, 罗玉莲, 等. 力竭运动胁迫对三种鲤科鱼类低氧耐受和热耐受的影响 [J]. *水生生物学报*, 2023, **47**(12): 1986-1992.]
- [8] Huang T J, Li X M, Fan M X, *et al.* Fasting on swimming performance, thermal tolerance and spontaneous activity juvenile *Myxocyprinus asiaticus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, **47**(6): 950-957. [黄悌基, 李秀明, 樊美黠, 等. 禁食对胭脂鱼幼鱼游泳能力、热耐受能力和自发运动的影响 [J]. *水生生物学报*, 2023, **47**(6): 950-957.]
- [9] Pang X, Fu S J, Liu X H, *et al.* Effects of body mass on energy metabolism and thermal tolerance in Qingbo (*Spinibarbus sinensis*) [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, **40**(16): 5814-5821. [庞旭, 付世建, 刘小红, 等. 中华倒刺鲃能量代谢和热耐受特征的体重效应 [J]. *生态学报*, 2020, **40**(16): 5814-5821.]
- [10] Xia J G, Cai R Y, Lv X, *et al.* The effects of heating/cooling rate and acclimation mode on the determination of thermal tolerance of zebrafish (*Danio rerio*) and guppy (*Poecilia reticulata*) [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2016, **35**(8): 2170-2174. [夏继刚, 蔡瑞钰, 吕潇, 等. 升温/降温速率和驯化模式对斑马鱼及孔雀鱼热耐受性测定的影响 [J]. *生态学杂志*, 2016, **35**(8): 2170-2174.]
- [11] Peng J, Cao Z D, Fu S J. The effects of constant and diel-fluctuating temperature acclimation on the thermal tolerance, swimming capacity, specific dynamic action and growth performance of juvenile Chinese bream [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 2014(176): 32-40.
- [12] Lawson N D. Reverse genetics in zebrafish: mutants, morphants, and moving forward [J]. *Trends in Cell Biology*, 2016, **26**(2): 77-79.
- [13] Bicego K C, Barros R C H, Branco L G S. Physiology of

- temperature regulation: comparative aspects [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 2007, **147**(3): 616-639.
- [14] Liu Z H, Li Q L, Li K R, *et al.* Acute photoperiod disturbances disrupted the aggressive, anxiety, and fear behaviors of male zebrafish [J]. *Journal of Chongqing Normal University (Natural Science)*, 2020, **37**(6): 33-38. [刘智皓, 李庆玲, 李柯骛, 等. 不同光周期急性暴露对雄性斑马鱼攻击、焦虑和恐惧行为的干扰效应 [J]. 重庆师范大学学报(自然科学版), 2020, **37**(6): 33-38.]
- [15] Cheng R K, Tan J X M, Chua K X, *et al.* Osmotic stress uncovers correlations and dissociations between larval zebrafish anxiety endophenotypes [J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2022(15): 900223.
- [16] Steimer T. The biology of fear- and anxiety-related behaviors [J]. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 2002, **4**(3): 231-249.
- [17] Shepard R, Coutellier L. Changes in the prefrontal glutamatergic and parvalbumin systems of mice exposed to unpredictable chronic stress [J]. *Molecular Neurobiology*, 2018, **55**(3): 2591-2602.
- [18] Horzmann K A, Lin L F, Taslakjian B, *et al.* Anxiety-related behavior and associated brain transcriptome and epigenome alterations in adult female zebrafish exposed to atrazine during embryogenesis [J]. *Chemosphere*, 2022, **308**(Pt 3): 136431.
- [19] Gatto E, Dadda M, Bruzzone M, *et al.* Environmental enrichment decreases anxiety-like behavior in zebrafish larvae [J]. *Developmental Psychobiology*, 2022, **64**(3): e22255.
- [20] DePasquale C, Leri J. The influence of exercise on anxiety-like behavior in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Behavioural Processes*, 2018(157): 638-644.
- [21] Kalueff A V, Stewart A M, Gerlai R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders [J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2014, **35**(2): 63-75.
- [22] Piatto Á L, Capiotti K M, Tamborski A R, *et al.* Unpredictable chronic stress model in zebrafish (*Danio rerio*): behavioral and physiological responses [J]. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2011, **35**(2): 561-567.
- [23] Mocelin R, Marcon M, D'Ambros S, *et al.* N-acetylcysteine reverses anxiety and oxidative damage induced by unpredictable chronic stress in zebrafish [J]. *Molecular Neurobiology*, 2019, **56**(2): 1188-1195.
- [24] Stewart A, Gaikwad S, Kyzar E, *et al.* Modeling anxiety using adult zebrafish: a conceptual review [J]. *Neuropharmacology*, 2012, **62**(1): 135-143.
- [25] Stewart A, Wu N, Cachat J, *et al.* Pharmacological modulation of anxiety-like phenotypes in adult zebrafish behavioral models [J]. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2011, **35**(6): 1421-1431.
- [26] Guo H. Effects of temperature acclimation on the heat tolerance and growth metabolism in *Schizothorax prenanti* [D]. Chongqing: Southwest University, 2019: 1-4. [郭鹤. 温度驯化对齐口裂腹鱼热耐受和生长代谢的影响 [D]. 重庆: 西南大学, 2019: 1-4.]
- [27] Zhou L Y, Li X M, Fu S J. The swimming behavior, stress and immune responses of juvenile qingbo and Chinese sucker subjected to short-term fasting [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, **42**(17): 7288-7295. [周龙艳, 李秀明, 付世建. 中华倒刺鲃和胭脂鱼游泳行为、应激和免疫能力对短期禁食的响应 [J]. 生态学报, 2022, **42**(17): 7288-7295.]
- [28] Zhou L Y, Li X M, Fu S J. The effect of predation acclimation on swimming behavior, stress and immune responses of juvenile *Myxocyprinus asiaticus* and *Spinibarbus sinensis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2021, **45**(5): 1112-1119. [周龙艳, 李秀明, 付世建. 捕食驯化对胭脂鱼和中华倒刺鲃游泳行为、应激和免疫功能的影响 [J]. 水生生物学报, 2021, **45**(5): 1112-1119.]
- [29] Griffiths B B, Schoonheim P J, Ziv L, *et al.* A zebrafish model of glucocorticoid resistance shows serotonergic modulation of the stress response [J]. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 2012(6): 68.
- [30] Dudgeon D, Arthington A H, Gessner M O, *et al.* Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges [J]. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 2006, **81**(2): 163-182.
- [31] Chakravarty S, Reddy B R, Sudhakar S R, *et al.* Chronic unpredictable stress (CUS)-induced anxiety and related mood disorders in a zebrafish model: altered brain proteome profile implicates mitochondrial dysfunction [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(5): e63302.
- [32] Leong K C, Packard M G. Exposure to predator odor influences the relative use of multiple memory systems: role of basolateral amygdala [J]. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2014(109): 56-61.
- [33] McEwen B S. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance [J]. *Brain Research*, 2000, **886**(1/2): 172-189.
- [34] McEwen B S. Glucocorticoids, depression, and mood disorders: structural remodeling in the brain [J]. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 2005, **54**(5 Suppl 1): 20-23.
- [35] Mark F C, Bock C, Pörtner H O. Oxygen-limited thermal tolerance in Antarctic fish investigated by MRI and 31 [J]. *Integrative and Comparative Physiology*, 2002, **283**(5): R1254-R1262.
- [36] Ern R. A mechanistic oxygen- and temperature-limited metabolic niche framework [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2019, **374**(1778): 20180540.
- [37] Shelford V E. Some concepts of bioecology [J]. *Ecology*, 1931, **12**(3): 455-467.
- [38] Yang C, Jiang M, Wen H, *et al.* Analysis of differential gene expression under low-temperature stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using digital gene expres-

- sion [J]. *Gene*, 2015, **564**(2): 134-140.
- [39] Wang Y P, Wang Z X. A comparative study of activities of the mitochondria atpase of the liver cells in several fishes [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1993, **17**(3): 216-221. [汪亚平, 王祖熊. 几种鱼类线粒体ATP酶活性的比较研究 [J]. *水生生物学报*, 1993, **17**(3): 216-221.]
- [40] Anttila K, Dhillon R S, Boulding E G, *et al.* Variation in temperature tolerance among families of Atlantic salmon (*Salmo salar*) is associated with hypoxia tolerance, ventricle size and myoglobin level [J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2013, **216**(Pt 7): 1183-1190.
- [41] Deng S Y, Wang J J, Zhang Y P, *et al.* Mechanism of seahorse ameliorating depression-like behavioral and pathological changes caused by chronic stress in zebrafish [J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2023, **39**(3): 520-525. [邓淑怡, 王佳佳, 张永平, 等. 海马改善斑马鱼慢性应激所致抑郁样行为和病理变化的机制 [J]. *中国药理学通报*, 2023, **39**(3): 520-525.]
- [42] Rodgers E M, Gomez Isaza D F. Stress history affects heat tolerance in an aquatic ectotherm (Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. *Journal of Thermal Biology*, 2022(106): 103252.
- [43] Tan G, Shi H Y, Chen Y J, *et al.* Feeding and fasting on swimming performance and hypoxia tolerance of *Micropterus salmoides* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, **46**(6): 826-831. [谭淦, 史函颖, 陈拥军, 等. 摄食和饥饿对大口黑鲈游泳运动能力和低氧耐受的影响 [J]. *水生生物学报*, 2022, **46**(6): 826-831.]
- [44] Plaut I. Critical swimming speed: its ecological relevance [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 2001, **131**(1): 41-50.
- [45] Marras S, Claireaux G, McKenzie D J, *et al.* Individual variation and repeatability in aerobic and anaerobic swimming performance of European sea bass, *Dicentrarchus labrax* [J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2010, **213**(1): 26-32.
- [46] Christou M, Ropstad E, Brown S, *et al.* Developmental exposure to a POPs mixture or PFOS increased body weight and reduced swimming ability but had no effect on reproduction or behavior in zebrafish adults [J]. *Aquatic Toxicology*, 2021(237): 105882.
- [47] Fu S J, Dong Y W, Killen S S. Aerobic scope in fishes with different lifestyles and across habitats: trade-offs among hypoxia tolerance, swimming performance and digestion [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 2022(272): 111277.
- [48] Zhang C, Li Y, Yu H, *et al.* Co-exposure of nanoplastics and arsenic causes neurotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*) through disrupting homeostasis of microbiota-intestine-brain axis [J]. *The Science of the Total Environment*, 2024(912): 169430.

ANXIETY ON THERMAL TOLERANCE AND SWIMMING ABILITY IN FEMALE ADULT ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*)

LI Xiao-Hong, FU Cheng and FU Shi-Jian

(Laboratory of Evolutionary Physiology and Behavior, Chongqing Key Laboratory of Conservation and Utilization of Freshwater Fishes, Chongqing 401331, China)

Abstract: To investigate the impact of anxiety on the thermal tolerance and swimming ability of fish, this study focuses on female adult zebrafish (*Danio rerio*), where experimental subjects were randomly divided into anxious and control groups. The anxious group underwent a 2-week treatment of chronic unpredictable stress (UCS) to establish an anxious model, while the control group remained untreated. Following the treatment period, anxiety-related behavioral indicators, whole-body cortisol and estradiol levels, thermal tolerance [Critical thermal maximum (CT_{max}), critical thermal minimum (CT_{min}), lethal thermal maximum (LT_{max}), and lethal thermal minimum (LT_{min})], and swimming ability (Maximum sustained swimming speed, U_{cat}) were assessed in both groups. The results showed significantly heightened anxiety levels and cortisol concentrations in the anxious group compared to the control group ($P < 0.01$), accompanied by notably lower estradiol levels ($P < 0.01$). The CT_{min} of the anxiety group was significantly elevated in contrast to the control group ($P < 0.01$), and LT_{min} also showed a higher trend ($P < 0.05$), although no statistically significant differences were observed in CT_{max} , LT_{max} , and U_{cat} between the two groups ($P > 0.05$). The study suggests that a 2-week UCS regimen effectively establishes an anxiety model in zebrafish, and the consequential reduction in estradiol secretion in adult female may detrimentally impact reproduction in the later stages. Additionally, anxiety attenuates the cold tolerance of zebrafish, which may be related to the elevation of cortisol levels and the decrease in physical fitness caused by anxiety.

Key words: Anxiety; Thermal tolerance; U_{cat} ; Unpredictable chronic stress; *Danio rerio*