

Luo L J, Zhou Y X, Ren X X, *et al.* Application of small model fish in chemical toxicology [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2025, 49(10): 102515.
[罗丽君, 周宇希, 任欣欣, 等. 小型模式鱼类在化学品毒理学研究中的应用 [J]. 水生生物学报, 2025, 49(10): 102515.]

综述

小型模式鱼类在化学品毒理学研究中的应用

罗丽君¹ 周宇希² 任欣欣² 李冰洁² 徐志祥¹ 华江环^{2,3*} 韩建^{2*} 周炳升²

(1. 大连海洋大学水产与生命学院, 大连 116023; 2. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 3. 湖北中医药大学基础医学院, 武汉 430065)

摘要: 化学品的广泛应用在推动社会发展的同时, 也带来了严重的环境污染问题, 威胁生态环境和人类健康。因此, 开展化学品毒理学研究及健康风险评估对实现污染物风险管控具有重要意义。斑马鱼、稀有鮕鲫和青鳉等小型鱼类因其优良的实验动物模型优势, 以及与哺乳动物的高度保守性, 已成为环境毒理学研究的重要模型。文章综述了小型模式鱼类在化学品毒理学研究领域的应用进展, 包括标准化毒性测试体系, 毒代动力学与生物富集研究, 以及多层次的毒性效应与机制研究, 重点涵盖胚胎发育、代谢紊乱、神经行为、内分泌干扰、心血管功能、免疫和生殖毒性等领域。同时分析了当前研究的不足与局限性, 并展望了未来发展方向, 以促进小型模式鱼类在毒理学领域的更广泛应用与发展。

关键词: 小型模式鱼类; 化学品; 毒性测试; 毒理学; 风险评价

中图分类号: X171.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2025)10-102515-24

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0218 **CSTR:** 32229.14.SSSWXB.2025.0218



随着人类社会工业化的快速发展, 化学品生产与使用量激增。据统计, 目前全球已知化学品超过35万种, 且每年新增约1000—2000种^[1,2]。这些化学品被广泛应用于工业生产、农业发展和日常生活中, 极大地促进了社会经济的发展。然而, 部分有毒有害化学品不可避免地通过排放或从产品中释放进入环境, 导致水体、大气和土壤等生态系统的污染^[3-5]。这些有毒有害物质不仅是环境污染物的主要来源, 还严重威胁着生态系统的稳定性和公共健康^[6-8]。研究表明, 一些环境污染物具有环境持久性、生物累积性和毒性等特征, 即使其环境浓度较低, 它们也可能通过食物链富集或长期暴露对生物体产生显著的健康风险, 包括致癌、致突变和内分泌干扰等效应^[9-14]。为应对这一挑战, 全球范

围内对新化学品在商业化前的毒性测试和风险评估提出了严格要求。例如, 欧盟的化学品注册、评估、授权和限制法规(REACH), 以及美国环保署(EPA)的化学品毒性评估方案, 均强调了化学品环境和健康风险评估的科学性与全面性^[15,16]。因此, 采用适当的生物模型和科学的评价方法, 对新化学品进行系统、全面的毒理学评价, 评估其对环境与人体健康的潜在风险, 既是化学品投入市场前安全评估的迫切需要, 也是我国新污染物治理和生态文明建设的重大需求。

与传统毒理学研究大多采用大鼠、小鼠等哺乳动物模型相比, 环境毒理学更加注重多生物层级和多物种水平的研究^[17], 并逐渐形成了涵盖从计算毒理到实验验证、从细胞等体外模型筛查到鱼类

收稿日期: 2025-06-23; 修订日期: 2025-07-14

基金项目: 国家自然科学基金(22406198和22276213); 2020年湖北省博士后创新研究岗位项目资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (22406198 and 22276213); 2020 Hubei Provincial Postdoctoral Innovative Research Position Program]

作者简介: 罗丽君(1999—), 女, 硕士研究生; 主要从事环境毒理学研究。E-mail: luolijun@ihb.ac.cn

通信作者: 华江环(1989—), 女, 博士; 主要研究方向环境毒理学。E-mail: huajianghuan@163.com 韩建(1983—), 男, 博士; 主要从事环境毒理学研究。E-mail: hanjian@ihb.ac.cn *共同通信作者

和啮齿类等体内模型评价的多层级毒理学研究体系^[18]。鱼类是水生态系统的重要组成部分,作为水生态系统的高营养级指示生物可以反映水体污染和水生态健康状况^[19]。同时,作为脊椎动物,鱼类拥有复杂的生命系统,能够反映从分子到个体水平的多层次变化,提供丰富的毒理学评价指标^[20]。小型鱼类由于具有发育周期短、繁殖周期短、易于大规模饲养、对环境变化敏感等优势^[21],弥补了哺乳动物模型实验周期长、成本高、通量低及伦理争议等短板,成为化学品毒理研究的理想动物模型^[22-24]。目前,斑马鱼(*Danio rerio*)、青鳉(*Oryzias latipes*)、稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)和黑头软口鲦(*Pimephales promelas*)等诸多小型模式鱼类已被广泛应用于化学品的毒理学研究^[25]。

近年来,基于小型模式鱼类的毒理学研究取得了显著进展,拓宽了对化学品毒性效应的认知,并深化了对毒性机理的理解,为化学品的环境健康风险评价提供了重要科学支撑^[22-25]。为进一步推动小型模式鱼类在其中的应用,本文系统回顾了近年来相关领域的研究进展,梳理了小型模式鱼类在化学品标准化毒性测试、毒代动力学与生物富集研究、以及多个毒性研究方向的应用情况(图1),重点涵盖胚胎发育毒性、代谢毒性、神经毒性、心血管毒性、免疫毒性、生殖毒性及甲状腺内分泌干扰等方面^[26-29]。此外,本文探讨了当前研究中存在的主要问题,如实验方法标准化不足、不同模式鱼类之间的结果可比性不高、低剂量长期暴露的生态学意义尚需深入研究等^[30,31]。

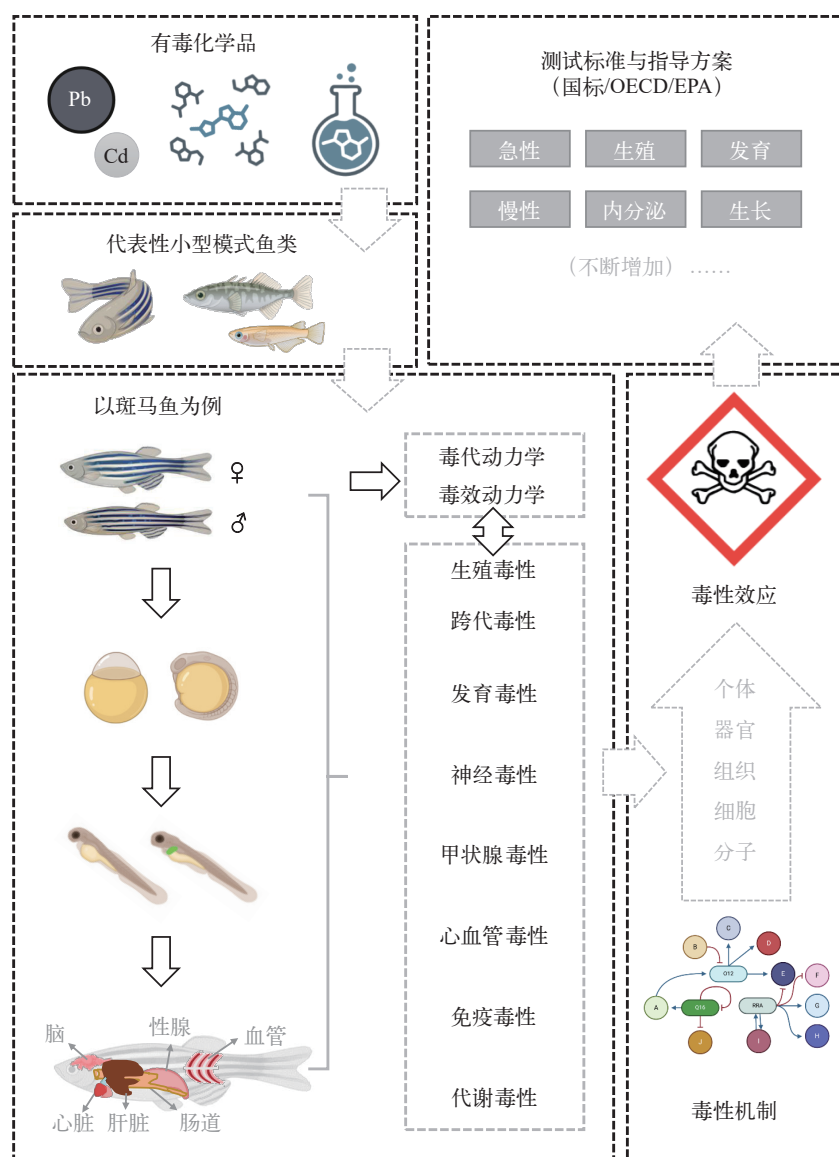


图1 基于小型模式鱼类的化学品毒理学研究概览

Fig. 1 An overview of chemical toxicology studies based on small model fish

同时, 本文强调进一步挖掘小型模式鱼类的应用潜力及开发高通量、精准的毒性检测技术的必要性, 以更好地应对新化学品的毒性评价与健康风险评估需求, 为环境保护和公共健康提供新的研究思路与方法学支持。

1 小型模式鱼类概述

毒理学测试中常用的小型鱼类物种主要包括斑马鱼(*Danio rerio*)、日本青鳉(*Oryzias latipes*)、稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)、黑头软口鲮(*Pimephales promelas*)、剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)、孔雀鱼(*Poecilia reticulata*)、食蚊鱼(*Gambusia affinis*)、三刺鱼(*Gasterosteus aculeatus*)、海水青鳉(*Oryzias melastigma*)、羊鲮(*Cyprinodon variegatus*)、银汉鱼(*Menidia beryllina*)和拟银汉鱼(*Atherinops affinis*)等。一方面, 小型鱼类具有体积小、生活史与繁殖周期短、维护成本低、易于大规模培养、测试简便和通量高等优势, 使得其在一般毒性测试中得到了广泛应用。另一方面, 斑马鱼、青鳉等模式物种在遗传学、发育生物学和分子生物学等领域的研究成果显著, 极大地促进了其在化学品毒理学领域应用。相比而言, 鲤(*Cyprinus carpio*)、虹鳉(*Oncorhynchus mykiss*)、蓝鳉鱼(*Lepomis macrochirus*)等体型较大鱼类的应用较少, 但这些鱼类的胚胎期和仔鱼期也是毒性测试的常用模型。表1总结了生态毒性测试中常用的小型鱼类, 包括分类、栖息地、测试主要用途、优缺点等。

1.1 斑马鱼

斑马鱼是一种起源于印度的小型热带淡水鲤科鱼类, 作为生命科学等研究领域被广泛使用的重要模式生物, 其基因组信息较为清晰, 与人类全基因组相似性达87%, 其中82%的人类疾病相关基因能在斑马鱼中找到同源基因^[32]。斑马鱼胚胎在体外进行发育, 胚胎通体透明便于观察器官形成和细胞行为; 其胚胎发育过程迅速, 96h左右全部器官发育完成, 生长发育周期比啮齿类动物短, 大大缩短了实验周期^[33]。斑马鱼还具有易饲养、养殖成本低、性成熟周期短(3—4月龄)、产卵周期可控、产卵量大等优势, 因而成为预测化学品水生急性毒性和胚胎毒性评价的理想模型^[34]。此外, 斑马鱼对化学品暴露较为敏感, 被广泛应用于慢性毒性测试, 如全生命周期毒性测试、内分泌干扰物筛查和行为毒性评估等^[34, 35]。在环境监测中, 斑马鱼及其转基因品系可用于检测有机污染物、重金属和农药等化学品的生物效应^[34, 36], 为水体污染的生态风险研究提供了有力工具。

1.2 黑头软口鲮

黑头软口鲮(*Pimephales promelas*), 又称黑头呆鱼, 是广泛分布于北美地区的鲤科鱼类^[34]。该鱼对环境适应能力强, 生长迅速, 4—5月龄即可性成熟, 可持续产卵数月^[34]。成鱼繁殖期具有独特的第二性征, 包括体表呈现暗色横纹、背垫及婚瘤等, 以及雄鱼护巢行为等, 所产黏性卵经4—5d孵化^[37]。它不仅易于实验室培养, 更因其对污染物的敏感性和可重复性, 在北美地区被广泛应用于各类化学品毒性测试^[34, 37]。黑头软口鲮在毒理学中的应用涵盖从急性毒性测试到全生命周期慢性暴露评估的多种实验方案, 广泛应用于化学品风险评估、废水毒性监测以及内分泌干扰物研究等领域^[34], 具体包括: (1)作为高关注物质、工业废水等复杂混合物生态毒理效应评价的关键模式生物, 特别适用于内分泌干扰物的跨代效应筛查; (2)基于其标准化的实验数据, 构建了多种定量-构效关系模型(QSAR), 为预测化合物毒性提供算法支持; (3)在混合物联合毒性机制解析、实验室-野外生态风险外推验证等环境毒理前沿领域发挥桥梁作用。该物种建立的剂量-效应数据库已成为生态风险评估的重要基准。近年来, 随着黑头软口鲮的基因组学研究有了显著进展, 其毒性生物标志物的开发和基因表达的环境响应研究, 推动了其在新兴化学品和多化学品协同效应研究中的应用^[34]。

1.3 青鳉

青鳉是一种起源于东亚地区的淡水鱼类, 主要分布于日本、韩国及中国东部。目前常用青鳉包括日本青鳉和海洋青鳉两种。在分类学上, 日本青鳉与海洋青鳉同属于青鳉属^[38]。在遗传信息方面, 日本青鳉全基因组序列已经解析, 而海洋青鳉与日本青鳉在系统发育上非常相近, 已开发出海洋青鳉的相关基因芯片^[39]。目前, 对这两种青鳉生理学、胚胎学和遗传学研究已相当深入^[40]。与斑马鱼类类似, 青鳉胚胎和仔鱼期透明, 2—3个月即可性成熟, 但其产卵周期较长、产卵量较少^[34]。而与斑马鱼相比, 青鳉作为模式物种还具有以下优势^[34, 38]: (1)温度适应范围较广, 便于构建温度敏感性的突变种; (2)盐度适应范围较宽, 可开展不同盐度环境下的比较研究; (3)可充分利用同属近缘物种进行比较生物学研究。相较于黑头软口鲮和斑马鱼, 关于青鳉幼体性腺发育分化过程的研究更为深入^[34]。此外, 青鳉的性别由性染色体决定, 其性别分化过程可通过分子标记进行追踪, 广泛用于研究性别反转、内分泌干扰物的作用及其他表型量化研究^[41, 42]。因此, 青鳉也常被应用于生态毒理学的急性与慢性

表 1 常见小型模式鱼类在化学品毒性测试中的标准化应用

Tab. 1 Standardized applications of common small model fish species in chemical toxicological testing

种类 Fish species	主要 应用范围 Main application	测试指标 Test index	参考标准 Referenced standard	优点 Advantage	缺点Disadvantage
斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	全方位毒性 测试	LC ₅₀ 、EC ₅₀ ; 孵化率和畸形率等基本发育指标、最低观察效应浓度(LOEC)和无观察效应浓度(NOEC); 幼体发育指标; 生殖能力、性腺形态以及内分泌指标(卵黄蛋白原、类固醇激素); 性腺发育情况	急性毒性试验(OECD 203, 236 ^[57, 58] 、OPPTS 850.1075 ^[65] 、GB/T 13267-1991, 27861-2011, 21814-2008 ^[68-70] ; 早期生命阶段毒性试验(OECD 210 ^[60] 、OPPTS 850.1400 ^[66] 、GB/T 21854-2008 ^[72]); 胚胎和卵黄囊仔鱼阶段短期毒性试验(OECD 212 ^[59] 、GB/T 21807-2008 ^[71]); 延长14d毒性测试方法(OECD 204 ^[61] 、GB/T 21808-2008 ^[74]); 幼体生长试验(OECD 215 ^[46] 、GB/T 21806-2008 ^[75]); 短期繁殖试验(OECD 229 ^[62]); 21d内分泌活性物质筛查试验(OECD 230 ^[63]); 性发育试验(OECD 234 ^[64]); 全生命周期测试(OPPTS 850.1400 ^[66])	易饲养; 繁殖快、产卵量大; 胚胎透明、发育快; 遗传背景清晰; 实验标准化程度高 ^[25, 32]	环境适应性较弱 ^[25, 32]
日本青鳉 <i>Oryzias latipes</i>	重金属毒性、内分泌干扰、生殖毒性、跨生态系统污染研究	LC ₅₀ 、EC ₅₀ ; 孵化率和畸形率等基本发育指标、最低观察效应浓度(LOEC)和无观察效应浓度(NOEC); 幼体发育指标; 生殖能力、性腺形态以及内分泌指标(卵黄蛋白原、类固醇激素); 性腺发育情况	急性毒性试验(OECD 203 ^[57] 、OPPTS 850.1075 ^[65] 、GB/T 27861-2011, 21814-2008 ^[69, 70] ; 早期生命阶段毒性试验(OECD 210 ^[60] 、OPPTS 850.1400 ^[66] 、GB/T 21854-2008 ^[72]); 胚胎和卵黄囊仔鱼阶段短期毒性试验(OECD 212 ^[59] 、GB/T 21807-2008 ^[71]); 延长14d毒性测试方法(OECD 204 ^[61]); 幼体生长试验(OECD 215 ^[46]); 短期繁殖试验(OECD 229 ^[62]); 21d内分泌活性物质筛查试验(OECD 230 ^[63]); 性发育试验(OECD 234 ^[64])	耐受性高; 繁殖快; 胚胎透明、发育快, 遗传背景清晰, 有性染色体, 可通过分子标记追踪性别分化过程, 对内分泌干扰物敏感 ^[25, 40, 41, 42]	研究基础不如斑马鱼; 产卵较斑马鱼数量少; 对某些特定实验敏感性不如斑马鱼 ^[25, 40]
黑头软口鲮 <i>Pimephales promelas</i>	水污染评估、生物富集毒性	LC ₅₀ 、EC ₅₀ ; 孵化率和畸形率等基本发育指标、最低观察效应浓度(LOEC)和无观察效应浓度(NOEC); 幼体发育指标; 生殖能力、性腺形态以及内分泌指标(卵黄蛋白原、类固醇激素); 性腺发育情况	急性毒性试验(OECD 203 ^[57] 、OPPTS 850.1075 ^[65]); 早期生命阶段毒性试验(OECD 210 ^[60] 、OPPTS 850.1400 ^[66] 、GB/T 21854-2008 ^[72]); 胚胎和卵黄囊仔鱼阶段短期毒性试验(OECD 212 ^[59]); 延长14d毒性测试方法(OECD 204 ^[61]); 幼体生长试验(OECD 215 ^[46]); 短期繁殖试验(OECD 229 ^[62]); 21d内分泌活性物质筛查试验(OECD 230 ^[63]); 性发育试验(OECD 234 ^[64])	繁殖力强; 易于饲养; 实验标准化程度较高; 对水质污染敏感 ^[25, 34, 37]	遗传信息相对缺乏; 环境适应性较弱 ^[25, 34, 37]
稀有鮡鲫 <i>Gobiocypris rarus</i>	本地化水体污染监测、内分泌干扰毒性研究	LC ₅₀ 、EC ₅₀ ; 孵化率和畸形率等基本发育指标、最低观察效应浓度(LOEC)和无观察效应浓度(NOEC); 幼体发育指标	急性毒性试验(GB/T 27861-2011, 21814-2008, 29763-2013 ^[69, 70, 76]); 化学品鱼类早期生活阶段毒性(GB/T 21854-2008 ^[72]); 胚胎和卵黄囊仔鱼阶段的短期毒性试验(GB/T 21807-2008 ^[71]); 幼体生长试验(GB/T 21806-2008, 41692-2022 ^[75, 78])	易饲养; 实验标准化程度较高; 我国本土物种; 对环境污染物敏感 ^[25, 44, 45]	国际认可度相对较低; 研究数据偏少, 地理分布范围有限 ^[25, 44, 45]
孔雀鱼 <i>Poecilia reticulata</i>	内分泌干扰、农药毒性、微污染物监测	LC ₅₀	急性毒性试验(OPPTS 850.1075 ^[65])	繁殖力强; 卵胎生; 对水质变化敏感	遗传信息匮乏, 实际应用较少

续表 1

种类 Fish species	主要 应用范围 Main application	测试指标 Test index	参考标准 Referenced standard	优点 Advantage	缺点Disadvantage
三刺鱼 <i>Gasterosteus aculeatus</i>	内分泌干扰毒 性、生殖毒 性、发育毒性	雄性特征化、繁殖行 为、生殖能力、性腺 形态以及内分泌指标 (卵黄蛋白原、类固醇 激素)	短期繁殖试验(OECD 229 ^[62]); 性发育试验(OECD 234 ^[63]); 21d内分泌活性物质筛查试验 (OECD 230 ^[63])。	海水物种, 易观察繁 殖行为, 对雄激素类 高度敏感 ^[62, 63]	饲养条件要求较高; 遗传信息较少, 环境 适应性有限 ^[62]
银汉鱼 <i>Menidia beryllina</i>	水体污染监 测、急性毒 性、有机污染 物毒性	LC ₅₀ ; 最低观察效应浓 度(LOEC)和无观察效 应浓度(NOEC)	急性毒性试验(OPPTS 850.1075 ^[65]); 早期生命阶段毒 性试验(OPPTS 850.1400 ^[66])	海水物种, 易于饲养 与繁殖; 对有机污染 物敏感, 适合近海生 态毒性研究 ^[66]	对淡水环境适应性有 限 ^[66]

毒性研究^[43]。

1.4 稀有鮕鲫

稀有鮕鲫是我国特有的一种小型淡水鱼类, 主要分布于我国四川省的成都平原及其西部边缘地区, 包括岷江中游、沱江上游、大渡河中下游和青衣江中下游^[44, 45]。自 1990 年起, 中国科学院水生生物研究所培育新的本土实验鱼为目的, 对稀有鮕鲫开展实验动物化研究并推动其应用, 使得稀有鮕鲫已成为标准化实验动物^[44]。稀有鮕鲫具有与国际经济合作与发展组织(OECD)^[46]推荐的模式鱼类(斑马鱼、黑头软口鲮、青鳉等)相似的生物学优势: 个体较小、易饲养、繁殖快(4月龄即可产卵)、产卵量大、可周年连续产卵、胚胎透明易于观察等^[44]。此外, 稀有鮕鲫还表现出广适性特点, 对温度、溶氧和水质硬度的耐受范围广^[44]。在物种敏感性方面, 稀有鮕鲫对化学品的敏感性介于斑马鱼和黑头软口鲮, 尤其对重金属(如镉、铜、汞)和农药(如毒死蜱、氰戊菊酯)更为敏感^[47]。此外, 稀有鮕鲫的性别分化易受环境因素的影响, 已被广泛用于研究重金属和有机污染物内分泌干扰效应^[48–50]。随着对稀有鮕鲫基因组学和基因功能研究的深入, 为利用本土鱼类物种探索化学品毒性机制提供了重要的遗传学基础^[51]。作为中国特有的本土物种, 稀有鮕鲫在区域环境评价中展示出独特的生态指示价值。近年来, 稀有鮕鲫已被成功应用于我国经济发达流域的水环境原位监测与生态风险评估, 如珠江、太湖和鄱阳湖流域, 以及长江中游城市湖泊等^[52, 53]。

1.5 其他常用小型鱼类

其他鱼类如孔雀鱼、食蚊鱼、虹鳟、红剑鱼等, 被广泛应用于淡水水生生态毒性测试^[25, 54]。这些鱼类凭借其易饲养、对化学品敏感性高和实验方法成熟, 被用于评估农药、重金属及复杂污染物对淡水生态系统的影响。其他常用的海水模式鱼类包括三刺鱼、羊鲷、银汉鱼和拟银汉鱼等^[25, 55, 56]。这些鱼类具有较强环境适应性, 如三刺鱼是广盐性

物种, 作为常用于淡水和海水检测的模式指标生物, 在内分泌干扰物和性别分化研究中具有独特优势^[55]; 银汉鱼则以其对多种化学品的高敏感性和快速繁殖能力成为海洋污染毒性评估的重要工具^[56]。这些鱼类在急性、慢性及生命周期毒性测试中发挥了重要作用, 为淡水和海洋生态系统的风险评估提供了可靠的实验工具。

2 小型模式鱼类在化学品毒性测试中的应用

鱼类毒性测试体系的建立始于20世纪工业化进程加速期。1960年代, 自科普读物《寂静的春天》引发公众关注后, 国际经济合作与发展组织(OECD)于1972年发布了首个标准化指南——鱼类急性毒性试验(OECD 203)^[57], 标志着现代生态毒理研究范式的确立。此后, 以OECD和美国环保署(EPA)为代表的国际机构和组织持续改进并颁布了一系列基于小型鱼类毒性测试标准与指南, 涵盖急性毒性、慢性毒性和内分泌干扰毒性等多种评估方法, 为化学品的生态毒性评价提供了重要依据。在OECD标准中, 最早颁布的鱼类急性毒性试验(OECD 203)^[57]用于评估化学品对鱼类胚胎的96h半致死浓度(LC₅₀), 后对其进行更新修订, 于2013年发布了鱼胚胎急性毒性测试(OECD 236)^[58]作为其替代方案; 鱼类胚胎和仔鱼阶段短期毒性测试(OECD 212)^[59]开展胚胎和卵黄囊仔鱼阶段短期毒性测试, 分析致死和亚致死效应; 鱼类早期生命阶段毒性试验(OECD 210)^[60]包含胚胎毒性测试和仔鱼毒性测试两部分, 用于评估化学品的胚胎毒性和对出生后仔鱼的毒性影响; 鱼类延长毒性测试方法(OECD 204)^[61]测定化学品在14d暴露中对鱼类的致死效应和亚致死效应(如生长抑制、行为异常), 并计算无观察效应浓度(NOEC)和 LC₅₀, 推荐测试物种与急性毒性测试物种一致; 鱼类幼体生长试验(OECD 215)^[46]通过鱼类幼体阶段28d持续暴露, 评估化学品对幼体生长的影响; 鱼类短期繁殖试验(OECD 229)^[62]通常进行21d的化学品暴露, 观察对鱼类的

生殖能力、性腺形态及内分泌指标(卵黄蛋白原、类固醇激素)的影响; 21d鱼类内分泌活性物质筛查试验(OECD 230)^[63]是对成年雄、雌鱼进行21d的内分泌干扰效应筛查试验, 用于检测化学品的雌激素和雄激素活性及芳香酶抑制作用; 鱼类性发育试验(OECD 234)^[64]则侧重鱼类性发育测试, 评估化学品对鱼类性分化和发育的影响。

EPA制定的小型鱼类毒性测试指南和标准也具有重要参考价值, 所采用的测试物种具有一定的本土特色。例如, 淡水和海水鱼类急性毒性测试指南(OPPTS 850.1075)^[65]用于评估化学品对淡水和海水鱼类的96h急性毒性, 以斑马鱼、黑头软口鲶等作为淡水测试物种, 以大西洋鲑(*Salmo salar*)、银汉鱼、蓝鳃太阳鱼(*Lepomis macrochirus*)和虹鳟等多种鱼类作为海水测试物种; 鱼类早期生活阶段毒性试验(OPPTS 850.1400)^[66]选择受精卵至幼鱼阶段暴露, 用于评估化学物质对淡水和海水鱼类的毒性, 观测指标为最低观察效应浓度(LOEC)和无观察效应浓度(NOEC); 鱼类生命周期毒性测试指南(OPPTS 850.1500)^[67]用于评估化学品对鱼类整个生命周期中发育、生长和繁殖的慢性影响, 推荐测试物种包括淡水鱼黑头软口鲶和河口物种杂色底鲮(*Cyprinodon variegatus*)等。EPA标准尤其在工业废水和农田径流等复杂混合物的监测中得到广泛应用。

在参考OECD和EPA标准的基础上, 我国也先后制定和颁布了一系列毒性测试标准, 包括水质物质对淡水鱼(斑马鱼)急性毒性测定方法(GB/T 13267-1991)^[68]、化学品鱼类急性毒性试验(GB/T 27861-2011)^[69]、工业废水的试验方法——鱼类急性毒性试验(GB/T 21814-2008)^[70]、化学品鱼类胚胎和卵黄囊仔鱼阶段的短期毒性试验(GB/T 21807-2008)^[71]、化学品鱼类早期生活阶段毒性试验(GB/T 21854-2008)^[72]、化学品——青鳉早期生命阶段毒性试验(GB/T 29764-2013)^[73]、化学品鱼类延长毒性 14d试验(GB/T 21808-2008)^[74]、鱼类幼体生长试验(GB/T 21806-2008)^[75]等。需要指出的是, 上述我国化学品水生生态毒性测试标准的制定还兼顾考虑了本土化需求, 增加了我国特有鱼类——稀有鮡鲫^[69, 70, 72, 75]。此外, 还单独针对这一本土物种, 颁布了系列毒性测试标准, 包括化学品稀有鮡鲫急性毒性试验(GB/T 29763-2013)^[76]、化学品稀有鮡鲫胚胎急性毒性试验(GB/T 44396-2024)^[77]、化学品稀有鮡鲫幼体生长试验(GB/T 41692-2022)^[78]等。这些标准引入了本土物种稀有鮡鲫, 提升了毒性测试数据在中国水生生态风险评估中的代表性。

3 小型模式鱼类在化学品毒代动力学与生物富集研究中的应用

传统化学品毒性评价主要关注外暴露水平与毒性效应的剂量-反应关系, 但往往忽视了化学品的生物有效性^[79, 80]。为深入理解化学品进入机体的量及其在组织器官中的吸收、分布、代谢和排泄过程(即ADME过程), 需开展毒代动力学(TK)研究^[79, 80]。生物富集则是指化学品通过生物体的直接暴露(如呼吸、皮肤接触或摄食)或食物链传递, 在生物体内逐渐积累并达到高于环境介质浓度的过程^[81]。毒代动力学与生物富集研究是评估化学品生态风险的重要基础^[79-81]。小型模式鱼类(如斑马鱼、稀有鮡鲫等)凭借其明确的生理特征、短生命周期、操作便捷性, 以及代谢通路与高等脊椎动物的相似性, 成为研究化学品毒代动力学和生物富集的理想模型^[82, 83]。

毒代动力学研究在阐明ADME过程的基础上, 识别主要富集靶器官, 揭示内暴露特征与毒性效应间的内在关联。传统毒代动力学(TK)模型采用简化的单/双室结构, 虽可计算基础参数^[80], 但难以准确预测组织内暴露水平^[79]。生理毒代动力学(PBTK)模型则将关键组织/器官(如血液、肝、肾、脂肪)抽象为具有生理或解剖学意义的独立“室”, 各室通过血液循环连接, 并整合化学品的物化生化性质定量描述ADME过程^[84, 85]。与TK模型相比, PBTK具有更精细的结构, 在水生态毒理学研究中展现出显著优势。在虹鳟和黑头软口鲶的对比研究中, PBTK模型对39种有机化学物全鱼及组织浓度的预测准确率($\geq 88\%$)显著优于单室模型($\geq 68\%$)^[84]。在模拟全氟/多氟烷基化合物(PFASs)时, 与两室模型相比, PBTK模型更精准地预测了斑马鱼的内暴露剂量与组织分布^[86]。这些结果印证了PBTK模型在量化生物体内暴露水平的可靠性。目前, PBTK模型已成功拓展应用于混合化学品模拟和跨物种预测^[87, 88], 但其准确性受化合物性质(如极性、代谢速率)和暴露条件影响^[84, 88]。因此, 化学品关键参数(如 $\log K_{ow}$ 、代谢率)的精确测定至关重要^[89]。实际研究中, 还可将PBTK模型与化学品体内降解代谢过程或毒性效应变化进行整合应用。例如, 将PBTK模型与化学品代谢分析整合形成基于生理学的毒代动力学代谢模型(PBTK-MT), 可同步预测化学品及其代谢产物(如葡萄糖醛酸化/Glu、硫酸化/Sul产物)在鱼类体内的分布^[90]。由于单纯依赖PBTK模型难以动态关联化学品内暴露水平与毒性效应, 通过整合TD模型, 构建PBTK-TD框架, 可实现特定

暴露场景下毒性效应的时程预测^[91]。该框架在重金属和有机污染物的毒性研究中均展现出良好的定量解析能力。例如, 在金属毒性机制研究中, TK-TD模型通过关联镉、铅在斑马鱼鳃中的积累与氧化损伤标志物(ROS、MDA), 构建了“暴露-生物标志物-致死毒性”的定量通路; 通过引入损伤评估模型(DAM), 该研究还成功解释了LC₅₀值随时间变化的规律^[92]。在有机化学品效应方面, PBTK-TD模型则揭示了双酚A (BPA)及其代谢物在三刺鱼体内的分布特征, 及其与免疫动态变化(如吞噬活性显著升高、白细胞响应时程差异)之间的剂量-效应关系^[93]。这些研究充分验证了PBTK-TD框架在生态毒理学研究中的适用性和可靠性。

在生物富集方面, 小型模式鱼类为解析化学品在生物体内的积累过程提供了重要平台。化学品通过鳃、肠道和皮肤等途径进入鱼体后, 可能在内脏、脑、性腺等组织中蓄积。通过测定化学品在鱼体不同组织中的浓度分布, 结合水体或食物链中的化学品的浓度水平, 可计算生物富集因子(BCF)和生物放大因子(BMF), 进而评估化学品的生态风险^[94, 96]。研究发现, 化学品的理化性质显著影响其富集特征。例如, 全氟烷基次膦酸(PFPIAs)的BCF值高于其他氟化物, 且与膜-水分配系数(Dmw)呈正相关^[95]; 而微塑料(MPs)的粒径则直接影响其在鱼体内的分布范围, 5 μm MPs可进入肝脏, 20 μm MPs则主要滞留在鳃和肠道^[97]。

尽管目前基于小型模式鱼类的毒代动力学和生物富集研究取得了显著进展, 但仍面临若干挑战: 首先, 对于离子化合物和易代谢物质的毒代动力学预测仍存在较大偏差^[88]; 其次, 环境因素(如pH、温度)对ADME过程的影响机制尚不明确^[98]; 此外, 现有模型对长期低剂量暴露的模拟能力有限。未来需进一步优化参数精度、拓展跨物种适用性, 并加强动态暴露场景的模拟, 进一步提升小型鱼类模型在化学品风险评估中的应用价值。

4 小型模式鱼类在化学品毒性效应与机制研究中的应用

4.1 胚胎发育毒性

鱼类早期发育阶段对外源化学品暴露反应较为敏感^[99-101], 是评价化学品胚胎发育毒性的理想模型。斑马鱼和青鳉等小型鱼类由于具有产卵量大、胚胎透明、发育快速、易于观察等优势^[33, 34], 已被广泛应用于发育毒性研究。除常规急性毒性指标(LC₅₀/EC₅₀、死亡率、畸形率等)外, 还可对特定发育事件(如原肠胚形成、器官发生等)开展多层

次的毒性评估。例如, 全氟己烷磺酸(PFHxS)通过抑制神经嵴细胞分化导致斑马鱼仔鱼面部畸形^[102], 而四溴双酚A (TBBPA)则干扰原肠胚背腹轴细胞命运决定, 导致斑马鱼大脑和眼睛发育缺陷^[103]。转基因技术、高通量技术、机器学习和人工智能技术的应用, 极大拓展了鱼类胚胎发育毒性研究的维度。基于组织特异性启动子驱动的转基因斑马鱼模型, 为化学品暴露下器官发育的动态过程提供了可视化研究工具。例如, 心肌特异性荧光标记*Tg (cmlc2:GFP)*品系实现了心脏形态发生的实时定量观测^[104]; 双调控肝特异性荧光报告系统(*pfabp10-rtTA/pTRE-Tight-BI-AcGFP1*)可灵敏检测肝原基分化障碍^[101]; 中枢神经系统标记品系*Tg (nkx2.2a:mEGFP)*转基因斑马鱼通过测量运动神经元轴突长度变化显著提高神经毒物筛选灵敏度, 检出限比野生型斑马鱼提升约10倍^[105]; 肾小球标记品系*Tg (wt1b:GFP)*证实马兜铃酸A通过下调肾病蛋白表达破坏滤过屏障完整性^[106]。其次, 自动化显微成像平台与高通量筛选技术的联用, 将斑马鱼胚胎发育毒性检测通量提升至每天数千样本量级^[107]。基于计算机视觉的行为分析算法可定量识别亚致死剂量暴露引起的运动模式改变等神经发育行为表型^[108]。AI工具的应用实现了快速、客观地分析小型鱼类(如斑马鱼)胚胎发育阶段的表型形态和行为学的显微图像与视频数据, 从中提取定量信息, 实现了胚胎发育毒性高通量筛查^[109]。

在胚胎发育毒性解析方面, 多组学技术、单细胞测序、CRISPR-Cas9基因编辑等技术的应用, 深化了对化学品关键毒性通路和作用靶点的认识。例如, 脂质组学与转录组学联合分析揭示, 双酚A类似物(BPG和BPM)通过干扰过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)通路、破坏脂质稳态与转运, 最终导致斑马鱼胚胎发育异常^[110]。单细胞测序技术则突破传统组织水平分析的局限, 可识别组织中不同细胞亚群对化学品的特异性响应, 揭示敏感细胞类型分化轨迹细胞间通讯在毒性发生发展中的作用。例如, 单细胞RNA测序揭示, 全氟辛酸(PFOA)在斑马鱼胚胎2—30hpf敏感期优先损害心脏细胞, 并显著影响另外八类细胞, 如巨噬细胞的先天免疫反应^[111]; 纳米塑料(NPs)通过诱导血管内皮细胞和造血干/祖细胞(HSPCs)的氧化应激, 进而介导斑马鱼胚胎尾静脉丛(CVP)损伤并损害造血功能^[112]。单细胞RNA测序技术与转录组学联用, 揭示了聚苯乙烯纳米颗粒通过破坏斑马鱼胚胎红细胞分化过程——表现为成熟红细胞减少与未成熟红细胞增加并存, 抑制血红素合成进一步导致红细胞数量

下降,最终影响胚胎红细胞生成^[113]。CRISPR-Cas9基因编辑技术可通过构建特定基因突变型斑马鱼品系,对关键受体和蛋白靶点在毒性机制中的介导作用进行功能验证^[114]。

4.2 代谢干扰效应

鱼类等脊椎动物在肝脏和胃肠道系统发育、消化吸收、营养运输以及代谢调节等方面高度保守^[115]。斑马鱼等小型模式鱼类的糖脂代谢关键基因与人类同源性较高^[115-117],使其成为研究糖脂代谢紊乱、能量失衡及摄食调控的理想模型。通过基因编辑技术敲除乙二醛酶1(*glo1*)基因构建斑马鱼糖尿病模型^[118],而通过调整饮食可建立斑马鱼肥胖模型,用于研究化学品暴露对非酒精性脂肪肝(NAFLD)及肥胖等代谢综合征发生发展^[119]。越来越多的证据表明,环境内分泌干扰物(如全氟/多氟烷基化合物(PFASs)、有机氯农药和多氯联苯(PCBs)等)能够影响机体代谢稳态,增加代谢性疾病风险^[120-122],但其分子机制仍需深入阐明。利用斑马鱼等遗传背景明确的鱼类模型,可系统解析化学品暴露代谢性疾病的发生机制,为健康风险评估提供依据。

作为物质代谢与解毒的核心器官,肝脏功能紊乱可导致能量失衡及毒性累积^[123]。外源化学品可通过多种途径干扰肝脏代谢功能。例如,杀虫剂茚虫威能够干扰斑马鱼肝脏三羧酸循环和氨基酸代谢,降低解毒能力^[124];4-叔丁基苯酚(4-BP)、全氟丁磺酸(PFBS)或双酚S(BPS)暴露诱导斑马鱼肝脏空泡化、氧化应激与炎症,促进肝脏脂质积累^[125-127]。当肝细胞内脂质过度蓄积时,会发展为NAFLD^[119]。肝细胞脂质过载可导致线粒体功能受损,诱发炎症反应,并发展为非酒精性脂肪肝炎(NASH)^[128]。四溴邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(TBPH)暴露可诱导斑马鱼成鱼产生NAFLD,并促进NAFLD向NASH发展^[83,119],这可能与过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)启动子的甲基化修饰及下游调控导致有关^[129]。此外,TBPH还可以通过激活FoxO介导的脂滴自噬来重塑斑马鱼肝脏脂质代谢过程^[14]。外源化学品还可以通过其他途径来干扰机体物质和能量代谢。例如,铜(Cu)可通过激活肝脏X受体(LXR α)和固醇调节元件结合蛋白(SREBP1)途径促进斑马鱼肝脂质沉积^[130];而十溴二苯乙烷(DBDPE)可通过抑制线粒体氧化磷酸化过程引发糖脂代谢紊乱,破坏能量稳态^[131]。因此,外源化学品可通过干扰脂质代谢通路(如PPAR γ 、LXR α /SREBP1)、诱发氧化应激及炎症反应等机制,导致肝脏代谢紊乱,甚至发展为NAFLD。

除肝脏外,健康肠道对于维持代谢稳态具有关键作用^[132]。外源化学品可通过诱发肠道损伤或改变肠道菌群结构间接影响代谢功能。例如,PFBS暴露通过改变肠道微生物组成,导致斑马鱼脂质代谢紊乱^[133];而TBPH暴露能够增加肠道中厚壁菌门和拟杆菌门的相对丰度,提高斑马鱼的肥胖风险^[134]。聚苯乙烯纳米塑料(PS-NPs)能够引起斑马鱼肠道氧化应激与炎症、增加肠道病原菌丰度,干扰糖脂代谢^[135]。此外,肠-肝轴作为重要的代谢调控枢纽,通过胆汁酸循环、菌群代谢产物(如短链脂肪酸、LPS)及免疫信号分子(如IL-6/TNF- α)等实现双向调控^[136,137]。例如,聚乙醇酸微塑料(PGA-MP)诱导斑马鱼肠道菌群代谢紊乱,导致其代谢物脂多糖(LPS)含量上升,并通过肠-肝轴对肝脏脂质代谢和合成产生不良影响^[138]。值得注意的是,聚苯乙烯微塑料(MPs)和土霉素(OTC)的复合暴露可协同破坏肠-肝轴调控功能,加速NAFLD的发生发展^[139]。多组学技术揭示,轮胎衍生物6-PPD/6-PPDQ破坏斑马鱼肠屏障,导致菌群失调(如变形菌门增多)、胆汁酸代谢紊乱,通过“肠道渗漏-菌群移位-肝脏代谢重编程”轴促进脂肪肝^[140]。单细胞RNA测序结果揭示,双酚A及其替代品BPF、BPAF在环境浓度暴露下,会通过激活斑马鱼肠道细胞脂质吸收通路和免疫代谢相关基因,导致肝脏脂肪变性、胰岛素抵抗等代谢异常^[141]。这种肠-肝互作机制为解释化学品诱导的代谢干扰提供了新的视角。

摄食行为受神经内分泌系统的精密调控^[142],而化学品可通过干扰相关受体通路影响能量摄入。双酚A(BPA)及四溴双酚A(TBBPA)可通过激活大麻素1型受体(CB1)增强斑马鱼食欲,增加肥胖风险^[143];除草剂敌草隆可通过破坏多巴胺能(DA)神经调节过程来抑制海水青鳉的摄食行为^[144]。相反,2-乙基己基二苯基磷酸酯(EHDPHP)通过抑制多DA受体(DRD2)增加斑马鱼的摄食量、摄食率和摄食频率,最终导致肥胖表型^[127]。这些研究为理解化学品介导的代谢紊乱提供了神经内分泌调控视角。

4.3 神经毒性

小型鱼类因其与哺乳动物高度保守的神经系统结构和功能特征,在化学品神经毒性评估中展现出独特优势^[145,146]。针对小型模式鱼类(斑马鱼、稀有鲟鲫等),研究人员已建立了涵盖从胚胎发育到成鱼阶段、全面反映多种神经功能的行为学测试体系,为评估化学品的神经毒性提供了丰富的终点检测指标^[147-149]。在鱼类胚胎期,自发性尾部卷曲频率的变化可灵敏反映神经运动功能损伤^[150]。

仔鱼期的趋光反应和视动反应(OKR)则能有效评估视觉系统发育异常。如磷酸三苯酯(TPhP)暴露可显著下调视蛋白基因表达, 导致OKR反应潜伏期延长35%^[151], 而四溴二苯醚(BDE-99)通过抑制*six7*表达使中波长光感受器发育受损42%^[152]。在感觉神经系统方面, 重金属暴露呈现特异性损伤模式: 镉暴露(50 $\mu\text{g/L}$)使耳石面积减小28%并破坏平衡功能^[153], 铜暴露(20 $\mu\text{g/L}$)导致嗅觉神经元数量减少40%^[154]。百草枯能够抑制斑马鱼仔鱼侧线神经丘毛细胞发育, 最终影响了仔鱼的趋流性行为^[155]。成鱼阶段的行为学分析更具多样性, 除了基础行为学变化, 还可以开展新鱼缸潜底测试、迷宫测试^[149]、镜像攻击测试、捕食者逃避测试、社交互动测试和群游行为测试等复杂行为研究^[156]。

化学品可通过影响神经发育、改变神经递质代谢相关的酶活性及神经递质水平等复杂的机制诱发神经毒性。例如, 五溴联苯醚(DE-71)暴露会引起斑马鱼髓鞘碱性蛋白和神经元微管蛋白表达下降, 但乙酰胆碱酯酶(AChE)的活性显著增强, 其行为表现为过度活跃^[157]; 而亲代暴露导致DE-71传递到子代, 但子代的AChE活性受到显著抑制, 且上述中枢神经系统发育相关基因的表达显著降低, 子代游动能力下降^[158]。环境浓度的杀虫剂溴氰菊酯暴露增加了斑马鱼大脑谷氨酸水平, 促进了大脑中谷氨酸能突触之间这种兴奋性神经递质的释放, 最终导致成年斑马鱼的社交行为过度活跃^[159]。此外, 微、纳米塑料暴露能够降低斑马鱼AChE活性, 抑制多种神经递质水平, 下调谷氨酸受体、钾离子通道、突触素、神经元分化和轴突发生等相关基因, 最终导致癫痫样行为和游泳能力下降^[160]。特别是纳米级尺寸的微塑料, 可以穿过血脑屏障, 在斑马鱼脑组织积累并生成过量活性氧和DNA氧化损伤, 引起中枢神经元损伤^[161]。聚苯乙烯纳米塑料与壬基酚长期复合暴露通过氧化应激、胆碱能/谷氨酸能系统紊乱及能量代谢障碍产生协同神经毒性, 并导致斑马鱼神经细胞减少^[162]。近年来, 多组学(如转录组学、蛋白组学和代谢组学等)技术和单细胞测序技术在毒理学领域的应用, 为研究化学品神经毒性机制提供了有力工具^[163—172]。例如, 长期暴露于25 $\mu\text{g/L}$ 溴虫氟苯双酰胺的斑马鱼出现运动异常和认知缺陷, 代谢组学与单细胞转录组测序联合分析揭示, 该杀虫剂通过扰乱谷胱甘肽代谢和GABA能突触功能、改变神经元与胶质细胞比例及调控突触相关基因表达, 最终破坏突触稳态并诱发神经毒性^[165]。单细胞RNA测序和代谢组学联合分析, 系统揭示了锰暴露导致斑马鱼脑中多巴胺能神经

元铁死亡信号通路异常的关键机制^[166]。Min等^[168]基于二甲基叔丁基醚(MTBE)的新型多组学策略仅需30个斑马鱼胚胎即可同步完成代谢组和脂质组分析, 并揭示了PFOS通过干扰能量代谢和鞘脂通路诱发斑马鱼仔鱼多动行为的神经毒性机制。

小型模式鱼类凭借其高度保守的神经发育机制和较为完善的神经行为学评价体系, 为化学品神经毒性评估提供了理想的研究平台。结合多组学技术和单细胞测序等新兴方法, 全面揭示了化学品从分子到行为水平的神经毒性作用机制。未来可结合神经生物学领域常用的光遗传学^[169]、电生理技术^[170]、脑类器官^[171]等新兴技术, 进一步阐明神经毒性的细胞特异性机制和神经环路基础, 为化学品神经毒性风险评估提供更全面的科学依据。

4.4 心血管毒性

越来越多的研究表明, 化学品或环境污染物暴露可导致心血管系统结构和功能损伤, 与先天性心脏病、心律失常、心脏代谢紊乱、动脉粥样硬化、冠心病和高血压等多种心血管疾病的发生发展密切相关^[173, 174]。小型模式鱼类, 特别是斑马鱼已成为研究心血管毒性的重要模型^[175]。斑马鱼胚胎的心血管系统发育具有明确的时序特征, 心脏在受精后24h开始成形, 48h分化出功能性心房和心室, 72h即具备规律跳动和完整功能^[176]。血管系统从36h开始分化, 48—72h建立功能性血流。造血过程则始于22h的血岛初级造血, 随后在肝脏完成第二阶段造血^[177]。这些特征为研究化学品对心血管系统的影响提供了理想窗口。

研究发现, 持久性有机污染物、微塑料和重金属等化学品可通过多种机制诱发心血管毒性^[178, 179]。二噁英暴露能延长斑马鱼心脏的静脉窦-动脉球距离导致心脏发育不全^[180]; 而在青鳉胚胎中则可通过激活芳香烃受体(AhR)信号通路诱导血管发育损伤, 导致胚胎尾静脉中血液凝集^[181]。铅暴露影响了斑马鱼幼鱼*nkx2.5*基因表达, 从而抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路调节心脏发育, 导致心包水肿^[182]。四氯双酚 A 通过抑制细胞黏附因子的表达, 导致斑马鱼中枢神经系统血管发育和胚胎心血管生成异常, 出现心脏充血、心包积液和头部血管缺失等现象^[183]。而四溴二苯醚(BDE-99)和2, 2', 4, 4'-四溴联苯醚(BDE-47)通过抑制血管内皮生长因子(VEGF)/VEGFR2和血管生成素信号转导途径, 导致斑马鱼仔鱼血管发育障碍^[184, 185]。随着仔鱼胚胎心脏发育成熟并建立完整生理功能, 可通过显微成像等技术对其心血管功能进行精确评估, 包括心率监测、心电图分析、血液循环观测及造血功能检测等多项

指标。此外,借助心血管荧光标记转基因斑马鱼和多通道成像平台,可实现化学品血管发育毒性的高通量筛查^[107]。

不同类型化学品暴露可通过不同机制显著干扰心脏正常发育过程,影响心血管功能。例如,全氟辛烷磺酸(PFOS)可导致海水青鳉幼鱼脏窦静脉和球状动脉(SV-BA)距离增大,进而诱发心律失常^[186]。菲(PHE)和六溴环十二烷(HBCD)则可通过破坏斑马鱼仔鱼的钙离子稳态,诱导产生心律不齐症状^[187, 188]。二氧化硅纳米颗粒(SiNPs)和甲基汞(MeHg)暴露不仅会造成斑马鱼血管内皮损伤,还会显著降低心率和心输出量^[189]。苯并[a]芘暴露可导致斑马鱼胚胎出现心动过缓、心律失常等异常表现,同时显著降低收缩末期容积(EDV)、每搏输出量(ESV)和心输出量(SV)等关键心功能参数^[190]。在血管功能方面,多氯联苯(PCB126)通过破坏斑马鱼幼鱼血管内皮细胞的通透性,导致尾主动脉血管狭窄,从而使外周血液平均流速降低^[191]。铅与硅纳米材料的复合暴露可协同干扰钙离子稳态,诱发内质网氧化应激,表现为心肌收缩功能异常、心率下降、心腔出血及血管发育障碍等多重毒性效应^[192]。此外,研究还发现多种化学品可显著影响造血系统功能。四溴双酚A(TBBPA)暴露会导致斑马鱼胚胎血细胞在后血岛(PBI)异常聚集,并引起尾静脉(CV)发育缺陷,进而阻碍血细胞回流和初始血液循环建立^[193]。菲(PHE)暴露可下调原始造血标志基因表达,造成原始红细胞循环障碍和造血干细胞生成减少,最终影响红细胞和骨髓细胞数量^[194]。6:2氯化多氟醚磺酸盐可通过下调 β -catenin、*nkx2.5*、*sox9b*等心脏发育关键基因的表达,导致斑马鱼仔鱼出现心包水肿、心率下降及红细胞减少等症状^[195]。

4.5 生殖毒性

下丘脑-垂体-性腺(HPG)轴是鱼类生殖内分泌调控的关键,其调控机制兼具脊椎动物保守性与鱼类的特异性。在鱼类中,下丘脑释放促性腺激素释放激素(GnRH),同时受多巴胺能神经元和促性腺激素抑制激素(GnIH)的协同调控。垂体前叶的促性腺激素细胞随后分泌促卵泡激素(FSH)和黄体生成素(LH)。这些促性腺激素进而调控性腺合成性激素(雌二醇、睾酮、11-酮睾酮等),最终促进配子发生和性腺发育^[196]。值得注意的是,鱼类HPG轴还包含独特的“HPG-肝轴(HPGL轴)”调控通路,(雌性)鱼类肝脏在雌激素作用下合成卵黄蛋白原(VTG),并通过血液运输到卵子,促进卵子营养物质贮存和发育成熟^[196]。与哺乳动物相比,鱼类HPG轴对环境因素(如光周期、温度、激素)的响应更为

敏感,且性腺分化具有更强的可塑性,这些特征使鱼类成为研究环境内分泌干扰物生殖毒性的理想模型。此外,小型模式鱼类具有性成熟与生殖周期短、繁殖效率高及生殖内分泌调控机制保守等优势,已在化学品生殖毒性评价中得到了广泛应用^[197]。

研究表明,化学品可通过干扰HPGL轴等途径来影响鱼类生殖健康^[198]。其中,VTG作为鱼类敏感型的分子生物标志物,已被广泛应用于环境雌激素的检测与筛查。许多化学品具有类雌激素活性/抗雌激素活性,能够诱导雄性个体肝脏合成VTG,或抑制雌性个体肝脏正常合成VTG。例如,草甘膦暴露显著诱导青鳉幼鱼肝脏VTG基因表达,但在雌鱼中诱导脑部FSH和性腺CYP19A基因的表达,而在雄鱼中抑制肝脏雌激素代谢酶的表达,即通过不同的作用机制对青鳉VTG表达产生影响^[199]。另有研究表明,不同年龄阶段的三刺鱼长期受到高温胁迫或与镉复合暴露,显著抑制了雌鱼血清VTG水平,降低了亲代配子质量,最终导致子代存活率和孵化率显著降低^[200]。环境浓度的4,5-二氯-2-正辛基-4-异噻唑啉-3-酮(DCOIT)长期暴露可导致海水青鳉的雌激素效应,主要表现为雌激素效应,血清雌二醇(E2)与睾酮(T)比值升高,以及肝脏和血清中VTG、绒毛膜原的含量增加,且DCOIT对雄性的影响大于雌性^[201]。

小型模式鱼类性成熟时间短,精子和卵子获取相对容易,通过结合形态、病理、分子和生理生化分析等技术手段,可研究外源因素对配子数量与质量的影响和潜在毒性机理。研究表明,长期暴露于有机磷阻燃剂磷酸三(1,3-二氯-2-丙基)酯(TCPP)会延缓生殖细胞成熟,导致斑马鱼产卵量和精子数量减少^[202]。鱼类精子活力对化学品暴露的响应较为敏感。例如,McAllister等^[203]发现环境浓度的三丁基锡暴露能够引起斑马鱼精子活力下降。双酚A长期暴露可显著降低雄性稀有鮕鲫精子活力及其受精能力,同时伴随着精巢氧化应激(过氧化氢酶活性降低、过氧化氢水平升高)和炎症反应(IL-1 β 水平升高、炎症细胞浸润),提示这两者可能是致精子质量下降的关键机制^[204]。另有研究表明,长期暴露于三氯生(TCS)的斑马鱼会引起性激素调节紊乱,导致雌鱼和雄鱼正常生殖细胞数量均减少,最终降低后代的孵化率和存活率,损害繁殖能力^[205]。然而,与聚苯乙烯纳米塑料(PS-NPs)共暴露,可降低卵巢TCS含量,减弱由TCS诱导的雌二醇(E2)水平下降,从而减轻了TCS对卵巢发育的抑制作用;但共暴露增加了精巢TCS水平,睾酮合成被抑制,而E2水平升高,加剧了对精子发生的抑制作用,复

合暴露的生殖毒性具有明显的性别特异性^[206]。此外, 研究人员通过体外和活体暴露研究, 发现十溴二苯乙烷(DBDPE)暴露可导致斑马鱼精子活力和受精能力降低, 以及精子发生和形态异常; 研究进一步揭示了精巢DNA损伤、线粒体超极化、糖酵解和氧化磷酸化代谢失衡等现象, 并推测乳酸脱氢酶(LDH)可能是雄性生殖能力下降的潜在靶点^[207]。

与哺乳动物相比, 鱼类性腺分化具有更强的可塑性, 其性腺发育和性别分化过程容易受到类性激素类化学品干扰。例如, 雌激素类物质17 α -炔雌二醇(E₂)能够干扰青鳉性腺分化关键基因(*Sox9*、*Dmrt1*、*Foxl2*、*Cyp19a*等)的表达, 导致部分鱼的性腺兼性特征(如精巢中出现卵巢组织或卵巢中出现精巢结构), 并伴随着性激素水平紊乱、求偶行为异常及生殖力下降(产卵量、卵子质量及受精率降低)^[208]。类似地, 异黄酮类化合物雌马酚能够诱导青鳉产生与E₂相似的雌激素效应^[209], 其导致的生殖障碍现象(性腺发育异常、配子质量下降), 与污染水域野生梭鱼(*Mugil soiyu*)体内观察结果十分相似^[210]。

4.6 甲状腺内分泌干扰

甲状腺激素在鱼类生长发育、代谢调控和繁殖等多个方面发挥重要作用^[211]。鱼类甲状腺内分泌稳态依赖下丘脑-垂体-甲状腺轴(HPT)调节: 下丘脑分泌的促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)是调控垂体促甲状腺激素(TSH)分泌的主要因子, 而非哺乳动物的促甲状腺激素释放激素(TRH); TSH刺激甲状腺摄取碘并合成甲状腺激素(TH), 其中以四碘甲状腺原氨酸(T₄)为主, 三碘甲状腺原氨酸(T₃)的生成则主要依赖外周组织(如肝脏、肌肉)中T₄的脱碘作用。血液循环中的T₃和T₄通过负反馈机制抑制下丘脑CRH和垂体TSH的分泌, 以维持激素稳态。此外, 过量的TH在肝脏中经碘化或糖脂化修饰后随胆汁排出。相较于哺乳动物, 鱼类的HPT轴更侧重于维持T₄的平衡, 而T₃的生成和调控主要依赖于外周组织脱碘酶的作用^[212, 213]。目前, 基于小型模式鱼类的甲状腺内分泌干扰效应评价可从多个层面展开: (1)在个体及发育层面, 可考察生长速度、眼睛大小、色素沉着、鱼鳔膨胀等表型指标; (2)在组织病理学层面, 可观察甲状腺滤泡结构的变化(如增生或萎缩); (3)在激素水平上, 通过测定血浆或组织中的T₃、T₄及TSH含量评估甲状腺功能状态; (4)在分子水平上, 可检测促甲状腺激素(*tsh*)、脱碘酶(*dio1/dio2*)及甲状腺激素受体(*tra/trb*)等基因的表达变化。此外, 结合转基因报告基因鱼模型(如*tg:dio3-EGFP*)可实时监测甲状腺激素调控

通路的扰动^[214]。上述综合指标使小型鱼类成为高效筛查和评估甲状腺干扰化学物的理想实验模型^[211]。

研究表明, 化学品可通过多种途径干扰甲状腺内分泌系统的正常功能, 其不仅能够导致甲状腺病理学变化, 还可以干扰丘脑-垂体-甲状腺轴(HPT轴)调控, 影响甲状腺激素的合成、分泌、转运和代谢过程^[215]。全氟化合物PFOS的慢性暴露会导致斑马鱼甲状腺滤泡结构发生显著改变, 包括滤泡上皮细胞间隙增大、线粒体空泡化及内质网局灶性脱颗粒等, 提示其可能通过破坏甲状腺滤泡的完整性来干扰激素的正常分泌^[216]。新溴代阻燃剂十溴二苯乙烷(DBDPE)暴露虽未引起明显的甲状腺滤泡病理学改变, 但能够上调斑马鱼仔鱼的促甲状腺激素 β 亚基(TSH β)和甲状腺素转运蛋白(TTR)的基因表达, 从而增加T₃和T₄水平^[217]。多溴联苯醚(PBDEs)、多氯联苯(PCBs)及其羟基化代谢物(OH-PCBs)由于与甲状腺激素T₄结构相似, 可竞争性结合TTR, 或作为甲状腺激素受体(TR)的激动剂或拮抗剂, 干扰正常的甲状腺激素信号传导与甲状腺激素平衡^[218-219]。研究表明, 类PFOS物质, 包括氯代全氟辛基醚磺酸盐、氢化全氟辛基醚磺酸盐及氯代全氟辛烷磺酸盐能竞争性取代甲状腺激素、与血浆及膜转运蛋白结合, 从而分别干扰TH的运输与功能; 还能通过影响钠/钾依赖性碘离子转运或竞争性结合脱碘酶活性位点, 破坏TH的合成与活化过程^[220]。这些研究表明, 化学品可以通过直接竞争性结合TTR、TR或脱碘酶等关键蛋白, 诱导甲状腺内分泌干扰效应。此外, BDE-47不仅能破坏类视黄醇的运输和代谢, 还能激活维甲酸(RA)信号通路, 从而间接抑制TH信号通路, 形成跨通路的干扰效应^[221]。

甲状腺激素调控异常还可能影响鱼类的重要生理功能, 包括鱼鳔、眼睛发育和游泳能力等。研究发现, 甲状腺内分泌干扰物七氟丁酸(PFBA)和三(1, 3-二氯异丙基)磷酸酯(TDCPP)暴露可显著抑制青鳉和斑马鱼的鱼鳔充气功能^[222, 223]。类似地, 6-丙基-2硫氧嘧啶(PTU)暴露导致青鳉*tshb*表达上调, 同时引起眼睛发育异常、鱼鳔充气障碍及游泳能力下降^[223]。此外, 微塑料(MPs)与酚类抗氧化剂丁基羟基茴香醚(BHA)的复合暴露可协同增加斑马鱼血清T₄和TSH水平, 同时降低血清T₃水平, 进一步凸显了化学品联合暴露的潜在风险^[224]。

4.7 免疫毒性

鱼类免疫系统的发育和功能调控过程复杂, 其成熟的免疫防御体系包括先天性免疫和适应性免疫。先天性免疫作为第一道防线, 依赖于物理屏障

(如皮肤和鳞片)及多种免疫细胞(包括巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞),通过识别病原相关分子模式(PAMPs)快速启动非特异性免疫应答^[225]。而适应性免疫则具有高度特异性,能够针对特定病原体产生靶向性反应并形成免疫记忆^[226]。鱼类胚胎发育早期主要依赖先天性免疫防御,其中巨噬细胞和中性粒细胞发挥着关键作用^[227]。

得益于胚胎透明和易于基因操作的特点,斑马鱼等小型模式鱼类已成为免疫毒性研究的理想模型。首先,利用免疫细胞特异性荧光标记转基因斑马鱼品系,可快速筛查化学品的免疫毒性。例如,利用转基因斑马鱼*Tg(hyz:DsRed)*和*Tg(mpeg1:EGFP)*研究发现,甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(EMB)暴露可显著减少中性粒细胞(红色荧光标记)和巨噬细胞(绿色荧光标记)的数量^[228]。类似研究还发现,不同碳链长度的全氟烷基物质(PFASs)能同时抑制先天性免疫和适应性免疫,且其毒性效应与碳链长度呈正相关^[229]。其次,鱼类尾鳍切除模型因其操作简便、反应灵敏等特点,被广泛应用于先天性免疫功能研究。研究表明,全氟辛酸(PFOA)暴露会显著抑制中性粒细胞向尾鳍损伤部位的趋化迁移^[230],而纳米银颗粒(AgNP)则能促进中性粒细胞募集但抑制活性氧(ROS)生成,进而干扰组织再生过程^[231]。除先天性免疫外,化学品对适应性免疫的影响还体现在肠道免疫屏障的破坏。长期暴露于苯并三唑类紫外光稳定剂(BUVSs)可激活斑马鱼肠道AhR信号通路,上调*IL-22*等免疫因子表达,导致肠道组织损伤^[232]。值得注意的是,肠道菌群紊乱也被证实会加剧免疫失调,如微塑料(MPs)暴露可导致变形菌门丰度升高和放线菌门丰度下降,通过促进脂多糖(LPS)产生而削弱肠道屏障功能,进而提高机体对病原体的易感性^[233]。

化学品的免疫毒性机制主要涉及氧化应激和炎症反应的激活。以6:2氟调聚物磺酸盐(6:2 FTSA)为例,其暴露可导致斑马鱼胚胎出现典型的氧化应激特征:抗氧化酶(SOD、LZM)活性降低,而炎症指标(TNOS、iNOS、ACP、AKP)活性和MDA含量显著升高,同时伴随*IL-1 β* 、*TNF- α* 、*NF- κ B*和*TLR4*等炎症因子的过度表达^[234]。类似地,三氯生(TCS)和三氯卡班(TCC)可通过抑制T细胞分化并促进促炎因子(*il-1 β* 、*il-6*、*tnf- α*)基因表达来发挥免疫毒性^[235]。对全氟类化合物(PFOS、PFOA及其替代品)的研究进一步揭示,这些物质可能通过激活TLR/NLR/RLR信号通路来干扰免疫稳态^[236]。此外,纳米氧化锌^[237]和四溴双酚A^[193]等可通过诱导肝脏氧化损伤来破坏免疫功能,而农药和重金属

则通常通过上调促炎因子(*TNF- α* 、*IL-6*)水平和降低抗炎因子(*IL-10*)水平的双重作用,最终导致免疫调节网络失衡^[238—240]。这些发现为深入理解化学品对鱼类免疫系统的干扰机制提供了重要依据。

4.8 多代与跨代毒性

多代与跨代毒性一般用来描述亲代暴露对子代的影响。例如,当F0代鱼类成年个体受到暴露时,其原始生殖细胞也被视为受到暴露,因此对F0、F1代的影响被称为多代毒性;而跨代毒性强调了对未受到直接暴露的子代的影响,如F2代^[241]。研究表明,化学品不但可以由亲代通过配子传递给子代对子代造成暴露,而且还可以通过表观遗传学改变对未暴露子代造成影响,这使得化学品的多代和跨代毒性效应成为生态风险评价的关键考量因素^[242]。特别值得注意的是,化学品在生殖细胞发育关键时期诱导的表观遗传改变,已被证实是导致跨代毒性的主要分子基础,其核心机制主要涉及DNA甲基化、组蛋白修饰等^[243—245]。

在表观遗传学研究领域,斑马鱼因其与哺乳动物相似的DNA甲基化模式及保守的表观遗传调控机制,成为理想的脊椎动物模型^[246]。斑马鱼具有以下显著优势:体外受精特性使实验操作简便;性成熟周期短(3—4个月)便于快速传代研究;胚胎直接暴露于污染物可实现F0代全生命周期暴露,其子代即为F1代,而F2代则成为首个完全未暴露的世代。这一特性与哺乳动物需至F3代才完全未暴露的特点形成鲜明对比^[247]。目前,斑马鱼已被广泛应用于化学品多代和跨代毒性研究。例如,成年斑马鱼暴露于环境浓度的2,4,6-三溴苯酚(TBP),其子代能检测到TBP,子代中甲状腺激素含量显著增加,下丘脑-垂体-甲状腺(HPT)轴基因表达水平发生显著变化,证实甲状腺内分泌紊乱的代际传递^[248]。类似地,环境剂量双酚A(BPA)暴露可导致子代斑马鱼抗缪勒氏管激素(*amh*)基因甲基化水平升高,明确揭示了表观遗传修饰的跨代改变^[249]。斑马鱼亲本砷暴露可导致未暴露的子代脑源性神经营养因子表达下调,并伴随着神经系统组蛋白H3K4me3甲基化程度和焦虑样行为增加^[244]。此外,化学品暴露还可以引起跨代毒性效应。例如,暴露于环境浓度的十溴二苯乙烷(DBDPE)会诱导未暴露的子代斑马鱼的促肾上腺皮质激素释放激素(*CRH*)基因低甲基化和尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(*ugt1ab*)高甲基化,导致F2代焦虑样行为和甲状腺内分泌紊乱的跨代毒性^[245]。另有研究报道,孔雀鱼(*Poecilia reticulata*)暴露于雌激素17 α -乙炔雌二醇(EE2)后,在F1代和F2代雄性个体中出现焦虑样行为,表明雌

激素导致的鱼类非生殖行为可以产生跨代影响^[250]。随着对表观遗传调控机制认知的不断深入, 将极大促进对化学品多代与跨代毒性的理解。

5 总结与展望

以斑马鱼、青鳉、稀有鮡鲫和黑头软口鲮等为代表的小型模式鱼类, 凭借其独特的生物学优势, 已成为化学品毒理学研究的重要模式生物。目前, 这些小型模式鱼类已被OECD、EPA及我国国家标准广泛采用, 建立了从急性到慢性毒性、从胚胎发育到全生命周期的标准化测试体系。在生物富集与毒代动力学研究领域, 通过建立基于这些小型鱼类生理学的毒代动力学模型(PBTK), 已经成功模拟了多种化学品在鱼体内的动态过程, 为量化化学品的环境行为提供了可靠数据。在毒性效应研究方面, 已积累了涵盖胚胎发育、代谢、神经行为、心血管功能、生殖内分泌、甲状腺内分泌干扰及跨代毒性等在内的多种毒性评价体系。在作用机制层面, 通过整合转录组学、蛋白质组学和代谢组学等多组学技术, 结合转基因品系构建、受体激动剂/拮抗剂实验和CRISPR/Cas9基因编辑技术等, 在揭示化学品的关键毒性通路和分子靶点方面已取得显著进展。

然而, 当前研究仍面临诸多挑战。在方法标准化方面, 现有毒性测试标准范围较窄、对毒性效应类型的覆盖度较低, 物种代表性十分有限, 难以满足环境低剂量长期暴露、复合污染等实际评价需求。未来可参考虹鳉标准化指南^[251], 制定毒性测试范围更加广泛、实验操作更加统一的毒性测试规范; 加快推进标准化进程, 完善小型模式鱼类毒性测试标准体系和公共数据库, 提升毒理学数据的可重复性与可比性。同时, 加强对生态系统关键物种和本土特色物种的开发与应用, 提升其环境代表性与国际认可度。在毒代动力学研究方面, 虽然现有模型已取得重要进展, 但不同物种间组织分配系数、代谢速率等关键生理参数差异显著, 且缺乏横向可比性, 限制了模型预测的准确性及外推应用。因此, 未来可在建立标准化实验方案基础上, 结合机器学习辅助参数优化与跨物种因子定量模型等, 构建毒代-毒效动力学特征关联与跨物种外推方法。在毒性效应与作用机制研究方面, 当前研究整体上受限于对生命科学进展的认知与跟进, 以及与环境化学等学科的交叉融合。尽管现有高通量分析技术提供了大量微观尺度的数据, 但缺乏对其与各层级毒性效应的有效关联和对关键分子作用靶点的精准识别, 尤其是多种污染物复合效应的分子

交互网络和信号通路整合机制。未来需要进一步加强多学科的交叉融合, 创新毒理学研究理论与方法, 充分利用各学科先进技术, 对系统深入阐释化学品的毒性效应与致毒机理形成有力支撑。特别是随着人工智能技术(AI)的不断发展与成熟, 加强其与先进的生物和化学检测技术深度融合, 将推动基于小型模式鱼类的毒理学研究进入智能化时代。例如, 将AI与高内涵、高通量自动化检测和单细胞多组学等前沿技术进行整合应用, 不但可以有效应对持续增加的化学品毒理学评价需求, 而且有望实现对单一或复合暴露毒性效应与机制的精准解析。(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Naidu R, Biswas B, Willett I R, *et al.* Chemical pollution: a growing peril and potential catastrophic risk to humanity [J]. *Environment International*, 2021(156): 106616.
- [2] Wang Z, Walker G W, Muir D C G, *et al.* Toward a global understanding of chemical pollution: a first comprehensive analysis of national and regional chemical inventories [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, **54**(5): 2575-2584.
- [3] Madhav S, Ahamad A, Singh A K, *et al.* Water Pollutants: Sources and Impact on the Environment and Human Health [M]. *Sensors in Water Pollutants Monitoring: Role of Material*. Singapore: Springer Singapore, 2019: 43-62.
- [4] Manisalidis I, Stavropoulou E, Stavropoulos A, *et al.* Environmental and health impacts of air pollution: a review [J]. *Frontiers in Public Health*, 2020, **20**(8): 14.
- [5] Siddiqua A, Hahladakis J N, Al-Attiya W A K A. An overview of the environmental pollution and health effects associated with waste landfilling and open dumping [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, **29**(39): 58514-58536.
- [6] Wohlleben W, Mehling A, Landsiedel R. Lessons learned from the grouping of chemicals to assess risks to human health [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, **62**(22): e202210651.
- [7] Bilal M, Adeel M, Rasheed T, *et al.* Emerging contaminants of high concern and their enzyme-assisted biodegradation—A review [J]. *Environment International*, 2019(124): 336-353.
- [8] Valdés M E, Rodríguez Castro M C, Santos L H M L M, *et al.* Contaminants of emerging concern fate and fluvial biofilm status as pollution markers in an urban river [J]. *Chemosphere*, 2023(340): 139837.
- [9] Ojo A F, Peng C, Ng J C. Assessing the human health risks of per- and polyfluoroalkyl substances: A need for greater focus on their interactions as mixtures [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021(407): 124863.
- [10] Rezg R, El-Fazaa S, Gharbi N, *et al.* Bisphenol A and

- human chronic diseases: Current evidences, possible mechanisms, and future perspectives [J]. *Environment International*, 2014(64): 83-90.
- [11] Ullah S, Zuberi A, Alagawany M, *et al.* Cypermethrin induced toxicities in fish and adverse health outcomes: Its prevention and control measure adaptation [J]. *Journal of Environmental Management*, 2018(206): 863-871.
- [12] Zhang Y, Xie J. Ferroptosis implication in environmental-induced neurotoxicity [J]. *Science of the Total Environment*, 2024(934): 172618.
- [13] Zhang Q, Wang Z, Xiao Q, *et al.* The effects and mechanisms of the new brominated flame retardant BTBPE on thyroid toxicity [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2023(180): 114027.
- [14] Zhou Y, Li F, Fu K, *et al.* Bis(2-ethylhexyl)-2, 3, 4, 5-tetrabromophthalate enhances foxo1-mediated lipophagy to remodel lipid metabolism in zebrafish liver [J]. *Environmental Science & Technology*, 2024, **58**(10): 4581-4593.
- [15] Krewski D, Acosta Jr D, Andersen M, *et al.* Toxicity testing in the 21st century: a vision and a strategy [J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 2010, **13**(2/3/4): 51-138.
- [16] Environmental Protection Agency (EPA). Procedures for Chemical Risk Evaluation Under the Amended Toxic Substances Control Act [S]. Environmental Protection Agency (EPA), 2017(40): 702.
- [17] Mangold-Döring A, Grimard C, Green D, *et al.* A novel multispecies toxicokinetic modeling approach in support of chemical risk assessment [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, **55**(13): 9109-9118.
- [18] Kim J, Kim S, Schaumann G E, *et al.* Reliable predictive computational toxicology methods for mixture toxicity: toward the development of innovative integrated models for environmental risk assessment [J]. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2013, **12**(3): 235-256.
- [19] Ritterbusch D, Blabolil P, Breine J, *et al.* European fish-based assessment reveals high diversity of systems for determining ecological status of lakes [J]. *Science of the Total Environment*, 2022(802): 149620.
- [20] Ducharme N A, Reif D M, Gustafsson J A, *et al.* Comparison of toxicity values across zebrafish early life stages and mammalian studies: Implications for chemical testing [J]. *Reproductive Toxicology*, 2015(55): 3-10.
- [21] Peng W, Liu C, Chen D, *et al.* Exposure to N-(1, 3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine (6PPD) affects the growth and development of zebrafish embryos/larvae [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022(232): 113221.
- [22] Planchart A, Mattingly C J, Allen D, *et al.* Advancing toxicology research using *in vivo* high throughput toxicology with small fish models [J]. *ALTEX*, 2016, **33**(4): 435-452.
- [23] Embry M R, Belanger S E, Braunbeck T A, *et al.* The fish embryo toxicity test as an animal alternative method in hazard and risk assessment and scientific research [J]. *Aquatic Toxicology*, 2010, **97**(2): 79-87.
- [24] Su T, Lian D, Bai Y, *et al.* The feasibility of the zebrafish embryo as a promising alternative for acute toxicity test using various fish species: a critical review [J]. *Science of the Total Environment*, 2021(787): 147705.
- [25] Shen M, Coady K, Dong J, *et al.* Application and outlook of various fish models used in chemical ecotoxicity test [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, **12**(2): 34-43. [沈敏, Katherine Coady, 董晶, 等. 化学品生态毒性测试鱼类模式生物的应用与展望 [J]. *生态毒理学学报*, 2017, **12**(2): 34-43.]
- [26] Fitzgerald J A, Könnemann S, Krümpelmann L, *et al.* Approaches to test the neurotoxicity of environmental contaminants in the zebrafish model: from behavior to molecular mechanisms [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2021, **40**(4): 989-1006.
- [27] Dutra Costa B P, Aquino Moura L, Gomes Pinto S A, *et al.* Zebrafish models in neural and behavioral toxicology across the life stages [J]. *Fishes*, 2020, **5**(3): 23.
- [28] Capela R, Garric J, Castro L F C, *et al.* Embryo bioassays with aquatic animals for toxicity testing and hazard assessment of emerging pollutants: a review [J]. *Science of the Total Environment*, 2020(705): 135740.
- [29] Dang Z, Arena M, Kienzler A. Fish toxicity testing for identification of thyroid disrupting chemicals [J]. *Environmental Pollution*, 2021(284): 117374.
- [30] Paparella M, Scholz S, Belanger S, *et al.* Limitations and uncertainties of acute fish toxicity assessments can be reduced using alternative methods [J]. *ALTEX*, 2021, **38**(1): 20-32.
- [31] Saiki P, Mello-Andrade F, Gomes T, *et al.* Sediment toxicity assessment using zebrafish (*Danio rerio*) as a model system: Historical review, research gaps and trends [J]. *Science of the Total Environment*, 2021(793): 148633.
- [32] Howe K, Clark M D, Torroja C F, *et al.* The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome [J]. *Nature*, 2013, **496**(7446): 498-503.
- [33] Wang M L, Ding Y F, Yin X, *et al.* Research progress regarding the application of zebrafish in toxicology [J]. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 2020, **28**(3): 390-396. [王明亮, 丁永芳, 印鑫, 等. 斑马鱼在毒理学中的应用研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, **28**(3): 390-396.]
- [34] Ankley G T, Johnson R D. Small fish models for identifying and assessing the effects of endocrine-disrupting chemicals [J]. *ILAR Journal*, 2004, **45**(4): 469-483.
- [35] Zhao W, Chen Y, Hu N, *et al.* The uses of zebrafish (*Danio rerio*) as an *in vivo* model for toxicological studies: a review based on bibliometrics [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2024(272): 116023.
- [36] Yang J, Wang Y Y L, Kazmi S S U H, *et al.* Evaluation

- of *in vitro* toxicity information for zebrafish as a promising alternative for chemical hazard and risk assessment [J]. *Science of the Total Environment*, 2023(872): 162262.
- [37] United States Environmental Protection Agency. Guidelines for the Culture of Fathead Minnows *Pimephales promelas* for Use in Toxicity Tests [S]. United States Environmental Protection Agency (USEPA), 1987(600): 3-87.
- [38] Wu X L, Huang Q S, Fang C, *et al.* *Oryzias melastigma*: a new promising model organism for marine ecotoxicology [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(4): 345-353. [伍辛浣, 黄乾生, 方超, 等. 新兴海洋生态毒理学模式生物——海洋青鳉鱼(*Oryzias melastigma*) [J]. 生态毒理学报, 2012, 7(4): 345-353.]
- [39] Chen Y, Fang Z J, Zheng J S, *et al.* Design of marine medaka (*Oryzias melastigma*) functional specific cDNA microarray and its ecotoxicological application [J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2010, 29(3): 359-366. [陈瑶, 方志俊, 郑金树, 等. 海洋青鳉鱼专用型基因芯片的设计及其在生态毒理学上的应用研究 [J]. 台湾海峡, 2010, 29(3): 359-366.]
- [40] Wittbrodt J, Shima A, Scharlt M. Medaka-a model organism from the far east [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2002, 3(1): 53-64.
- [41] Urushitani H, Katsu Y, Kato Y, *et al.* Medaka (*Oryzias latipes*) for use in evaluating developmental effects of endocrine active chemicals with special reference to gonadal intersex (testis-Ova) [J]. *Environmental Sciences*, 2007, 14(5): 211-233.
- [42] Cossaboon J M, Teh S J, Sant K E. Reproductive toxicity of DDT in the Japanese medaka fish model: Revisiting the impacts of DDT⁺ on female reproductive health [J]. *Chemosphere*, 2024(357): 141967.
- [43] Dasmahapatra A K, Williams C B, Myla A, *et al.* A systematic review of the evaluation of endocrine-disrupting chemicals in the Japanese medaka (*Oryzias latipes*) fish [J]. *Frontiers in Toxicology*, 2023(5): 1272368.
- [44] Wang J W, Cao W X. *Gobiocypris rarus* as a Chinese native model organism: history and current situation [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(2): 20-33. [王剑伟, 曹文宣. 中国本土鱼类模式生物稀有鮡鲫研究应用的历史与现状 [J]. 生态毒理学报, 2017, 12(2): 20-33.]
- [45] Wu S M, Zhang S H, Ji G X, *et al.* Research and discussion of rare minnow as an aquatic model organism [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(6): 38-46. [吴晟旻, 张圣虎, 吉贵祥, 等. 稀有鮡鲫作为水生模式生物的研究及探讨 [J]. 生态毒理学报, 2017, 12(6): 38-46.]
- [46] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, 215: Fish, Juvenile Growth Test [S]. Paris: OECD, 2000.
- [47] Bai Y, Lian D, Su T, *et al.* Species and life-stage sensitivity of Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) to chemical exposure: a critical review [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2021, 40(10): 2680-2692.
- [48] Zhong X, Xu Y, Liang Y, *et al.* Vitellogenin in rare minnow (*Gobiocypris rarus*): identification and induction by waterborne diethylstilbestrol [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2004, 137(3): 291-298.
- [49] Shi L, Wang N, Hu X, *et al.* Acute toxic effects of lead (Pb²⁺) exposure to rare minnow (*Gobiocypris rarus*) revealed by histopathological examination and transcriptome analysis [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2020(78): 103385.
- [50] Hong X, Yuan L, Zhao X, *et al.* Embryonic exposure to organophosphate flame retardants (OPFR) differentially induces cardiotoxicity in rare minnow (*Gobiocypris rarus*) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2024, 58(31): 13648-13657.
- [51] Hu X, Li H, Lin Y, *et al.* Genomic deciphering of sex determination and unique immune system of a potential model species rare minnow (*Gobiocypris rarus*) [J]. *Science Advances*, 2022, 8(5): eabl7253.
- [52] Pei Y, Tong Y, Li H, *et al.* In-situ biological effects, bioaccumulation, and multi-media distribution of organic contaminants in a shallow lake [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022(427): 128143.
- [53] Xiong X, Qiu N, Su L, *et al.* In situ assessment of Donghu Lake China using rare minnow (*Gobiocypris rarus*) [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2020, 79(2): 246-257.
- [54] Pan Y Q, Zhang Y M, Han Z G, *et al.* Subchronic toxicity test for *Xiphophorus helleri*, lebistes *Reticulatus* and *Gambusia affinis* [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2007, 26(3): 674-678. [潘永全, 张云美, 韩志刚, 等. 红剑鱼、孔雀鱼、食蚊鱼亚慢性毒性试验 [J]. 四川动物, 2007, 26(3): 674-678.]
- [55] Katsiadaki I, Morris S, Squires C, *et al.* Use of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) as a sensitive *in vivo* test for detection of environmental antiandrogens [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2006, 114(Suppl 1): 115-121.
- [56] Fuller C, Bonner J, Page C, *et al.* Comparative toxicity of oil, dispersant, and oil plus dispersant to several marine species [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2004, 23(12): 2941-2949.
- [57] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, 203: Fish, Acute Toxicity Test [S]. Paris: OECD, 1992.
- [58] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) test [S]. Paris: OECD, 2013.
- [59] OECD. Guidelines for testing of chemicals, 212: Fish, short-term toxicity test on embryo and sac-fry stages [S]. Paris: OECD, 1998.
- [60] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, 210: Fish, Early-life Stage Toxicity Test [S]. Paris: OECD, 1992.
- [61] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, 204: Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-day Study [S]. Paris: OECD, 1984.

- [62] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, 229: Fish Short Term Reproduction Assay [S]. Paris: OECD, 2012.
- [63] OECD Guideline for testing of chemicals, test no. 230: 21-day fish assay: a short-term screening for oestrogenic and androgenic activity, and aromatase inhibition [S]. Paris: OECD, 2012.
- [64] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, 234: Fish Sexual Development test [S]. Paris: OECD, 2011.
- [65] United States Environmental Protection Agency. Ecological Effects Test Guidelines, OPPTS 850.1075. Fish Acute Toxicity Test, Freshwater and Marine [S]. Washington DC: US EPA, 1996.
- [66] United States Environmental Protection Agency. Ecological Effects Test Guidelines, OPPTS 850.1400. Fish Early Life Stage Toxicity Test [S]. Washington DC: US EPA, 1996.
- [67] United States Environmental Protection Agency. Ecological Effects Test Guidelines, OPPTS 850. 1500. Fish Life Cycle Toxicity [S]. Washington DC: US EPA, 1996.
- [68] State Bureau of Technical Supervision, State Environmental Protection Administration. GB/T 13267-1991. Water quality-determination of the Acute Toxicity of Substance to Freshwater Fish [S]. Beijing: State Bureau of Technical Supervision, State Environmental Protection Administration, 1991. [国家技术监督局, 国家环境保护局. GB/T 13267-1991. 水质物质对淡水鱼(斑马鱼)急性毒性测定方法[S]. 北京: 国家技术监督局, 国家环境保护, 1991.]
- [69] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC. GB/T 27861-2011. Chemicals-Fish acute toxicity test [S]. Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC, 2011. [中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 27861-2011. 化学品鱼类急性毒性试验[S]. 北京: 中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会, 2011.]
- [70] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC. GB/T 21814-2008. Testing Methods for Industrial Wastewater-Fish Acute Toxicity [S]. Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC, 2008. [中华人民共和国质量监督检验检疫总局; 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21814-2008. 工业废水的试验方法——鱼类急性毒性试验 [S]. 北京: 中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会, 2008.]
- [71] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC. GB/T 21807-2008. Testing of Chemicals - Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-fry stages [S]. Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC, 2008. [中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21807-2008. 化学品鱼类胚胎和卵黄囊仔鱼阶段的短期毒性试验 [S]. 北京: 中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会, 2008.]
- [72] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC. GB/T 21854-2008. Chemicals-Fish Early-life Stage Toxicity Test [S]. Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC, 2008. [中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21854-2008. 化学品鱼类早期生命阶段毒性试验 [S]. 北京: 中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会, 2008.]
- [73] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC. GB/T 29764-2013. Chemicals-fish (*Oryzias latipes*, d-rR Medaka) Early Life Stage Toxicity Test [S]. Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC, 2013. [中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 29764-2013. 化学品——青鳉早期生命阶段毒性试验 [S]. 北京: 中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会, 2013.]
- [74] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC. GB/T 21808-2008. Chemicals-Fish Prolonged Toxicity: 14-day Study Test [S]. Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC, 2008. [中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21808-2008 化学品鱼类延长毒性 14天试验 [S]. 北京: 中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会, 2008.]
- [75] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC. GB/T 21806-2008. Fish Juvenile Growth Test [S]. Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC, 2008. [中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21806-2008. 鱼类幼体生长试验 [S]. 北京: 中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会, 2008.]
- [76] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC. GB/T 29763-2013. Chemicals - Rare Minnow (*Gobiocypris rarus*) Acute Toxicity Test [S].

- Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC, 2013. [中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 29763-2013. 化学品稀有鮡鲫急性毒性试验 [S]. 北京: 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会, 2013.]
- [77] National Market Supervision Administration, Inspection and Quarantine of PRC. GB/T 44396-2024. Chemicals - Rare Minnow (*Gobiocypris rarus*) Acute Toxicity Test [S]. Beijing: National Market Supervision Administration, Inspection and Quarantine of PRC, 2024. [国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. GB/T 44396-2024. 化学品稀有鮡鲫胚胎急性毒性试验 [S]. 北京: 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会, 2024.]
- [78] National Market Supervision Administration, Inspection and Quarantine of PRC. GB/T 41692-2022. Chemicals - Rare minnow (*Gobiocypris rarus*) Juvenile Growth Test [S]. Beijing: National Market Supervision Administration, Inspection and Quarantine of PRC, 2022. [国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. GB/T 41692-2022. 化学品稀有鮡鲫幼体生长试验 [S]. 北京: 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会, 2022.]
- [79] Zhang S Y, Wang Z Y, Chen J W. Application of physiologically based toxicokinetics models in risk assessment of chemicals [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2017(62): 4139-4150. [张书莹, 王中钰, 陈景文. 生理毒代动力学模型在化学品生态风险评价中的应用 [J]. *中国科学通报*, 2017(62): 4139-4150.]
- [80] Lv Y Z, Zhang Q Q, Zhao J L, *et al.* Physiologically based toxicokinetic models and application in aquatic ecotoxicological studies of organic pollutants: a review [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2018, **13**(5): 11-26. [吕银知, 张芊芊, 赵建亮, 等. 生理毒代动力学模型及其在有机污染物水生生态毒理研究中的应用 [J]. *生态毒理学报*, 2018, **13**(5): 11-26.]
- [81] Zhang L, Zhang S F, Yu S. Organophosphorus flame retardants in aquatic environment: a review on occurrence, bioaccumulation and metabolism [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2021, **16**(3): 78-94. [张丽, 张少峰, 于硕. 水环境中的有机磷阻燃剂及其生物富集和生物转化研究进展 [J]. *生态毒理学报*, 2021, **16**(3): 78-94.]
- [82] Li H, You J, Wang W X. Multi-compartmental toxicokinetic modeling of fipronil in tilapia: Accumulation, biotransformation and elimination [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018(360): 420-427.
- [83] Fu K, Zhu B, Sun Y, *et al.* Bis (2-ethylhexyl)-tetrabromophthalate poses a higher exposure risk and induces gender-specific metabolic disruptions in zebrafish liver [J]. *Environmental Science & Technology*, 2024, **58**(11): 4937-4947.
- [84] Stadnicka J, Schirmer K, Ashauer R. Predicting concentrations of organic chemicals in fish by using toxicokinetic models [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, **46**(6): 3273-3280.
- [85] Nichols J W, McKim J M, Andersen M E, *et al.* A physiologically based toxicokinetic model for the uptake and disposition of waterborne organic chemicals in fish [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1990, **106**(3): 433-447.
- [86] Lin X, Wang H, Zhang J, *et al.* Toxicokinetic modeling for intermittent dietary uptake of per- and polyfluoroalkyl substances by zebrafish [J]. *Environmental Science & Technology*, 2025, **59**(23): 11493-11504.
- [87] Golosovskaia E, Örn S, Ahrens L, *et al.* Studying mixture effects on uptake and tissue distribution of PFAS in zebrafish (*Danio rerio*) using physiologically based kinetic (PBK) modelling [J]. *Science of the Total Environment*, 2024(912): 168738.
- [88] Brinkmann M, Schlechtriem C, Reininghaus M, *et al.* Cross-species extrapolation of uptake and disposition of neutral organic chemicals in fish using a multispecies physiologically-based toxicokinetic model framework [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, **50**(4): 1914-1923.
- [89] Péry A R R, Devillers J, Brochot C, *et al.* A physiologically based toxicokinetic model for the zebrafish *Danio rerio* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48**(1): 781-790.
- [90] Liu Y H, Yao L, Huang Z, *et al.* Enhanced prediction of internal concentrations of phenolic endocrine disrupting chemicals and their metabolites in fish by a physiologically based toxicokinetic incorporating metabolism (PBTk-MT) model [J]. *Environmental Pollution*, 2022(314): 120290.
- [91] Feng J F, Gao Y F, Zhu J X, *et al.* Application of toxicokinetic-toxicodynamic models in aquatic ecological risk assessment for metals [J]. *Environmental Engineering*, 2019, **37**(11): 10-18. [冯剑丰, 高永飞, 朱景雪, 等. 毒代-毒效动力学模型及其在金属水生生态风险评估中的应用研究进展 [J]. *环境工程*, 2019, **37**(11): 10-18.]
- [92] Gao Y, Kang L, Zhang Y, *et al.* Toxicokinetic and toxicodynamic (TK-TD) modeling to study oxidative stress-dependent toxicity of heavy metals in zebrafish [J]. *Chemosphere*, 2019(220): 774-782.
- [93] Mit C, Bado-Nilles A, Turiès C, *et al.* PBTk-TD model of the phagocytosis activity in three-spined stickleback exposed to BPA [J]. *Aquatic Toxicology*, 2023(261): 106608.
- [94] Burkhard L P. Evaluation of published bioconcentration factor (BCF) and bioaccumulation factor (BAF) data for per- and polyfluoroalkyl substances across aquatic species [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2021, **40**(6): 1530-1543.
- [95] Chen F, Gong Z, Kelly B C. Bioavailability and bioconcentration potential of perfluoroalkyl-phosphinic and -phosphonic acids in zebrafish (*Danio rerio*): Comparison to perfluorocarboxylates and perfluorosulfonates [J].

- Science of the Total Environment*, 2016(568): 33-41.
- [96] Savoca D, Pace A. Bioaccumulation, biodistribution, toxicology and biomonitoring of organofluorine compounds in aquatic organisms [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, **22**(12): 6276.
- [97] Lu Y, Zhang Y, Deng Y, *et al.* Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, **50**(7): 4054-4060.
- [98] Gao Y, Feng J, Zhu L. Prediction of acute toxicity of cadmium and lead to zebrafish larvae by using a refined toxicokinetic-toxicodynamic model [J]. *Aquatic Toxicology*, 2015(169): 37-45.
- [99] Huang T, Jiang H, Zhao Y, *et al.* A comprehensive review of 1, 2, 4-triazole fungicide toxicity in zebrafish (*Danio rerio*): a mitochondrial and metabolic perspective [J]. *Science of the Total Environment*, 2022(809): 151177.
- [100] Nyholm J R, Norman A, Norrgren L, *et al.* Maternal transfer of brominated flame retardants in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Chemosphere*, 2008, **73**(2): 203-208.
- [101] Zhang L, Liu C, Zhou X, *et al.* Establishment of a transgenic zebrafish model with tetracycline-induced GFP expression in the liver [J]. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 2015, **23**(1): 81-85. [张力, 刘超, 周昕, 等. 四环素诱导肝脏特异表达绿色荧光蛋白转基因斑马鱼模型建立 [J]. *中国实验动物学报*, 2015, **23**(1): 81-85.]
- [102] Ulhaq Z S, Tse W K F. Perfluorohexanesulfonic acid (PFHxS) induces oxidative stress and causes developmental toxicities in zebrafish embryos [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023(457): 131722.
- [103] Pang S, Gao Y, Wang Y, *et al.* Tetrabromobisphenol A perturbs cell fate decisions via BMP signaling in the early embryonic development of zebrafish [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022(430): 128512.
- [104] Shi Y N, Yao L, Wang Y H, *et al.* Preliminary study of barium chloride's cardiotoxicity to zebrafish [J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2019, **35**(1): 145-146. [石亚楠, 姚磊, 王佑华, 等. 氯化钡对斑马鱼心脏毒性的初步研究 [J]. *中国药理学通报*, 2019, **35**(1): 145-146.]
- [105] Zhang X, Gong Z. Fluorescent transgenic zebrafish *Tg (nkx2.2a: mEGFP)* provides a highly sensitive monitoring tool for neurotoxins [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(2): e55474.
- [106] Peng H C, Wang Y H, Wen C C, *et al.* Nephrotoxicity assessments of acetaminophen during zebrafish embryogenesis [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2010, **151**(4): 480-486.
- [107] Zhong X, Chen J, Zhang Z, *et al.* Development of an automated morphometric approach to assess vascular outcomes following exposure to environmental chemicals in zebrafish [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2024, **132**(5): 57001.
- [108] Fontana B D, Canzian J, Rosemberg D B. Swimming into the future: Machine learning in zebrafish behavioral research [J]. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2025(139): 111398.
- [109] Wang N, Dong G, Qiao R, *et al.* Bringing artificial intelligence (AI) into environmental toxicology studies: a perspective of AI-enabled zebrafish high-throughput screening [J]. *Environmental Science & Technology*, 2024, **58**(22): 9487-9499.
- [110] Zhao X, Liu Z, Zhang Y, *et al.* Developmental effects and lipid disturbances of zebrafish embryos exposed to three newly recognized bisphenol A analogues [J]. *Environment International*, 2024(189): 108795.
- [111] Yu J, Cheng W, Jia M, *et al.* Toxicity of perfluorooctanoic acid on zebrafish early embryonic development determined by single-cell RNA sequencing [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022(427): 127888.
- [112] Chen J, Lu C, Xie W, *et al.* Exposure to nanoplastics cause caudal vein plexus damage and hematopoietic dysfunction by oxidative stress response in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2024(19): 13789-13803.
- [113] Kwon E J, Sung H M, Lee H, *et al.* Deciphering the toxic effects of polystyrene nanoparticles on erythropoiesis at single-cell resolution [J]. *Zoological Research*, 2025, **46**(1): 165-176.
- [114] Vujica L, Mihaljević I, Dragojević J, *et al.* Functional knockout of the *Oatp1d1* membrane transporter affects toxicity of diclofenac in zebrafish embryos [J]. *Aquatic Toxicology*, 2024(273): 107031.
- [115] Quinlivan V H, Farber S A. Lipid uptake, metabolism, and transport in the larval zebrafish [J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2017(8): 319.
- [116] Guo S, Zhu X, Zhou J. Advances in the application of zebrafish in functional food research [J]. *Acta Laboratorum Animal Science Sinica*, 2020(28): 143-147.
- [117] Nath A K, Ma J, Chen Z Z, *et al.* Genetic deletion of *gpr27* alters acylcarnitine metabolism, insulin sensitivity, and glucose homeostasis in zebrafish [J]. *The FASEB Journal*, 2020, **34**(1): 1546-1557.
- [118] Salehpour A, Rezaei M, Khoradmehr A, *et al.* Which hyperglycemic model of zebrafish (*Danio rerio*) suites my type 2 diabetes mellitus research A scoring system for available methods [J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021(9): 652061.
- [119] Guo W, Lei L, Shi X, *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease development in zebrafish upon exposure to bis (2-ethylhexyl)-2, 3, 4, 5-tetrabromophthalate, a novel brominated flame retardant [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, **55**(10): 6926-6935.
- [120] Le Magueresse-Battistoni B, Vidal H, Naville D. Envi-

- ronmental pollutants and metabolic disorders: the multi-exposure scenario of life [J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2018(9): 582.
- [121] Casals-Casas C, Desvergne B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption [J]. *Annual Review of Physiology*, 2011(73): 135-162.
- [122] You L, Kou J, Wang M, *et al.* An exposome atlas of serum reveals the risk of chronic diseases in the Chinese population [J]. *Nature Communications*, 2024(15): 2268.
- [123] Shahryari M, Keller S, Meierhofer D, *et al.* On the relationship between metabolic capacities and in vivo viscoelastic properties of the liver [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022(10): 1042711.
- [124] Ma L, Yin Z, Xie Q, *et al.* Metabolomics and mass spectrometry imaging reveal the chronic toxicity of indoxacarb to adult zebrafish (*Danio rerio*) livers [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023(453): 131304.
- [125] Wang H, Liu J, Qiang S, *et al.* 4-tert-Butylphenol impairs the liver by inducing excess liver lipid accumulation via disrupting the lipid metabolism pathway in zebrafish [J]. *Environmental Pollution*, 2024(356): 124385.
- [126] Wang W, Zhang X, Qin J, *et al.* Long-term bisphenol S exposure induces fat accumulation in liver of adult male zebrafish (*Danio rerio*) and slows yolk lipid consumption in F1 offspring [J]. *Chemosphere*, 2019(221): 500-510.
- [127] Yang R, Zhang Y, Deng Y, *et al.* 2-ethylhexyl diphenyl phosphate causes obesity in zebrafish by stimulating overeating via inhibition of dopamine receptor D2 [J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, **57**(38): 14162-14172.
- [128] Tilg H, Moschen A R, Szabo G. Interleukin-1 and inflammasomes in alcoholic liver disease/acute alcoholic hepatitis and nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Hepatology*, 2016, **64**(3): 955-965.
- [129] Guo W, Han J, Wu S, *et al.* Bis (2-ethylhexyl)-2, 3, 4, 5-tetrabromophthalate affects lipid metabolism in zebrafish larvae via DNA methylation modification [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, **54**(1): 355-363.
- [130] Pan Y X, Zhuo M Q, Li D D, *et al.* SREBP-1 and LXR α pathways mediated Cu-induced hepatic lipid metabolism in zebrafish *Danio rerio* [J]. *Chemosphere*, 2019(215): 370-379.
- [131] Yang L H, Zhu B R, Zhou S Q, *et al.* Mitochondrial dysfunction was involved in decabromodiphenyl ethane-induced glucolipid metabolism disorders and neurotoxicity in zebrafish larvae [J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, **57**(30): 11043-11055.
- [132] Egusquiza R J, Blumberg B. Environmental obesogens and their impact on susceptibility to obesity: new mechanisms and chemicals [J]. *Endocrinology*, 2020, **161**(3): bqaa024.
- [133] Chen L, Lam J C W, Tang L, *et al.* Probiotic modulation of lipid metabolism disorders caused by perfluorobutanesulfonate pollution in zebrafish [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, **54**(12): 7494-7503.
- [134] Zhou Y, Guo W, Lei L, *et al.* Bis (2-ethylhexyl)-tetrabromophthalate induces zebrafish obesity by altering the brain-gut axis and intestinal microbial composition [J]. *Environmental Pollution*, 2021(290): 118127.
- [135] Zhu B, Chen X, Zhang T, *et al.* Interactions between intestinal microbiota and metabolites in zebrafish larvae exposed to polystyrene nanoplastics: Implications for intestinal health and glycolipid metabolism [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024(472): 134478.
- [136] Zhou Q, Zhang J W, Wang S P, *et al.* Research progress on the regulation of fish glycolipid metabolism, immunity and intestinal flora by bile acids [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2024, **48**(9): 1592-1602. [周茜, 张俊炜, 王升鹏, 等. 胆汁酸调节鱼类糖脂代谢、免疫及肠道菌群的研究进展 [J]. 水生生物学报, 2024, **48**(9): 1592-1602.]
- [137] Dong B, Moon H B. Toxicological effects of chemical pesticides in fish: Focusing on intestinal injury and gut microbial dysbiosis [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2025(211): 106405.
- [138] Luan J, Wen L, Bao Y, *et al.* Systemic toxicity of biodegradable polyglycolic acid microplastics on the gut-liver-brain axis in zebrafish [J]. *Science of the Total Environment*, 2024(954): 176898.
- [139] Zhou W, Shi W, Du X, *et al.* Assessment of nonalcoholic fatty liver disease symptoms and gut-liver axis status in zebrafish after exposure to polystyrene microplastics and oxytetracycline, alone and in combination [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2023, **131**(4): 47006.
- [140] Feng Y, Xian H, Bai R, *et al.* Multi-omics insights into 6PPD- and 6PPDQ-induced gut-liver axis disruption and non-alcoholic fatty liver disease progression in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Journal of Hazardous Materials*. 2025, (495): 138822.
- [141] Mu X, Qi S, Wang H, *et al.* Bisphenol analogues induced metabolic effects through eliciting intestinal cell heterogeneous response [J]. *Environment International*, 2022(165): 107287.
- [142] Sandhu K V, Sherwin E, Schellekens H, *et al.* Feeding the microbiota-gut-brain axis: diet, microbiome, and neuropsychiatry [J]. *Translational Research*, 2017(179): 223-244.
- [143] Tian S, Yan S, Meng Z, *et al.* New insights into bisphenols induced obesity in zebrafish (*Danio rerio*): Activation of cannabinoid receptor CB1 [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021(418): 126100.
- [144] Zhou Y, Han X, Bao Y, *et al.* Chronic exposure to envi-

- ronmentally realistic levels of diuron impacts the behaviour of adult marine medaka (*Oryzias melastigma*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2021(238): 105917.
- [145] Markert S M. Studying zebrafish nervous system structure and function in health and disease with electron microscopy [J]. *Development, Growth & Differentiation*, 2023, **65**(9): 502-516.
- [146] Shimmura T, Nakayama T, Shinomiya A, *et al.* Dynamic plasticity in phototransduction regulates seasonal changes in color perception [J]. *Nature Communications*, 2017(8): 412.
- [147] Stewart A M, Braubach O, Spitsbergen J, *et al.* Zebrafish models for translational neuroscience research: from tank to bedside [J]. *Trends in Neurosciences*, 2014, **37**(5): 264-278.
- [148] Ji P, Wang Y, Peron T, *et al.* Structure and function in artificial, zebrafish and human neural networks [J]. *Physics of Life Reviews*, 2023(45): 74-111.
- [149] Hong X, Zha J. Fish behavior: a promising model for aquatic toxicology research [J]. *Science of the Total Environment*, 2019(686): 311-321.
- [150] Zhang K, Liang J, Brun N R, *et al.* Rapid zebrafish behavioral profiling assay accelerates the identification of environmental neurodevelopmental toxicants [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, **55**(3): 1919-1929.
- [151] Shi Q, Wang Z, Chen L, *et al.* Optical toxicity of triphenyl phosphate in zebrafish larvae [J]. *Aquatic Toxicology*, 2019(210): 139-147.
- [152] Wei S, Chen F, Xu T, *et al.* BDE-99 disrupts the photoreceptor patterning of zebrafish larvae via transcription factor six7 [J]. *Environmental Science & Technology*, 2022, **56**(9): 5673-5683.
- [153] Han J, Liu K, Wang R, *et al.* Exposure to cadmium causes inhibition of otolith development and behavioral impairment in zebrafish larvae [J]. *Aquatic Toxicology*, 2019(214): 105236.
- [154] Ma E Y, Heffern K, Cheresh J, *et al.* Differential copper-induced death and regeneration of olfactory sensory neuron populations and neurobehavioral function in larval zebrafish [J]. *NeuroToxicology*, 2018(69): 141-151.
- [155] Ananthakrishna Tantry M S, Santhakumar K. Unveiling the ototoxic effects of paraquat on zebrafish larva [J]. *Aquatic Toxicology*, 2024(273): 107030.
- [156] Audira G, Sampurna B P, Juniardi S, *et al.* A versatile setup for measuring multiple behavior endpoints in zebrafish [J]. *Inventions*, 2018, **3**(4): 75.
- [157] Chen L, Huang C, Hu C, *et al.* Acute exposure to DE-71: effects on locomotor behavior and developmental neurotoxicity in zebrafish larvae [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2012, **31**(10): 2338-2344.
- [158] Chen L, Yu K, Huang C, *et al.* Prenatal transfer of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) results in developmental neurotoxicity in zebrafish larvae [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, **46**(17): 9727-9734.
- [159] Lei L, Zhu B, Qiao K, *et al.* New evidence for neurobehavioral toxicity of deltamethrin at environmentally relevant levels in zebrafish [J]. *Science of the Total Environment*, 2022(822): 153623.
- [160] Bhagat J, Zang L, Nishimura N, *et al.* Zebrafish: an emerging model to study microplastic and nanoplastic toxicity [J]. *Science of the Total Environment*, 2020(728): 138707.
- [161] Sökmen T Ö, Sulukan E, Türkoğlu M, *et al.* Polystyrene nanoplastics (20 nm) are able to bioaccumulate and cause oxidative DNA damages in the brain tissue of zebrafish embryo (*Danio rerio*) [J]. *Neurotoxicology*, 2020(77): 51-59.
- [162] Aliakbarzadeh F, Rafiee M, Khodagholi F, *et al.* Adverse effects of polystyrene nanoplastic and its binary mixtures with nonylphenol on zebrafish nervous system: From oxidative stress to impaired neurotransmitter system [J]. *Environmental Pollution*, 2023(317): 120587.
- [163] Mu X, Liu J, Wang H, *et al.* Bisphenol F impaired zebrafish cognitive ability through inducing neural cell heterogeneous responses [J]. *Environmental Science & Technology*, 2022, **56**(12): 8528-8540.
- [164] Mu X, Liu Z, Zhao X, *et al.* Bisphenol A analogues induce neuroendocrine disruption via gut-brain regulation in zebrafish [J]. *Environmental Science & Technology*, 2024, **58**(2): 1022-1035.
- [165] Wang K, Mu X, Liu X, *et al.* Broflanilide induces zebrafish neurobehavioral defects by interfering with synaptic homeostasis [J]. *Aquatic Toxicology*, 2025(283): 107355.
- [166] Zhang S, Wu L, Zhang J, *et al.* Multi-omics analysis reveals Mn exposure affects ferroptosis pathway in zebrafish brain [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023(253): 114616.
- [167] Min E K, Lee H, Sung E J, *et al.* Integrative multi-omics reveals analogous developmental neurotoxicity mechanisms between perfluorobutanesulfonic acid and perfluorooctanesulfonic acid in zebrafish [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023(457): 131714.
- [168] Min E K, Park S Y, Liu K H, *et al.* Applying newly suggested simultaneous analysis of metabolomics and lipidomics into perfluorooctanesulfonate-derived neurotoxicity mechanism in zebrafish embryos [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2025(484): 136712.
- [169] Del Bene F, Wyart C. Optogenetics: a new enlightenment age for zebrafish neurobiology [J]. *Developmental Neurobiology*, 2012, **72**(3): 404-414.
- [170] Kompella S N, Brette F, Hancox J C, *et al.* Phenanthrene impacts zebrafish cardiomyocyte excitability by

- inhibiting IKr and shortening action potential duration [J]. *Journal of General Physiology*, 2021, **153**(2): e202012733.
- [171] Huang F, You H, Tang X, *et al.* Early-life exposure to polypropylene nanoplastics induces neurodevelopmental toxicity in mice and human iPSC-derived cerebral organoids [J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2025, **23**(1): 474.
- [172] Zhao S, Ling Y, Zhang B, *et al.* Integrated multi-omics analysis reveals the underlying molecular mechanism for the neurotoxicity of triclosan in zebrafish [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2025(290): 117537.
- [173] Oikonomou E, Lazaros G, Georgiopoulos G, *et al.* Environment and cardiovascular disease: rationale of the Corinthia study [J]. *Hellenic Journal of Cardiology*, 2016, **57**(3): 194-197.
- [174] Roth G A, Mensah G A, Johnson C O, *et al.* Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990–2019: update from the GBD 2019 study [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2020, **76**(25): 2982-3021.
- [175] Sarmah S, Marrs J A. Zebrafish as a vertebrate model system to evaluate effects of environmental toxicants on cardiac development and function [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, **17**(12): 2123.
- [176] Ran K K, Zheng R F, Xia Q, *et al.* Application of model organism-zebrafish in cardiac function evaluation [J]. *Drug Evaluation Research*, 2021, **44**(8): 1581-1587. [冉凯凯, 郑瑞芳, 夏青, 等. 模式生物斑马鱼在心功能评价中的应用 [J]. 药物评价研究, 2021, **44**(8): 1581-1587.]
- [177] Zhang W J, Liang J X, Han P D. Research progress of zebrafish heart regeneration models [J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2022, **48**(1): 1-9. [张维嘉, 梁金秀, 韩佩东. 斑马鱼心脏再生模型及研究进展 [J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2022, **48**(1): 1-9.]
- [178] Asharani P V, Lianwu Y, Gong Z, *et al.* Comparison of the toxicity of silver, gold and platinum nanoparticles in developing zebrafish embryos [J]. *Nanotoxicology*, 2011, **5**(1): 43-54.
- [179] Wang M Y, Zhang L F, Tang Y Y, *et al.* Research progress of several aquatic biological models in toxicological evaluation of persistent organic pollutants [J]. *Environmental Chemistry*, 2021, **40**(5): 1361-1378. [王梦圆, 张龙飞, 汤云瑜, 等. 几种水生模式生物在持久性有机污染物毒理学评价中的研究进展 [J]. 环境化学, 2021, **40**(5): 1361-1378.]
- [180] Goldstone H M H, Stegeman J J. Molecular mechanisms of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin cardiovascular embryotoxicity [J]. *Drug Metabolism Reviews*, 2006, **38**(1/2): 261-289.
- [181] Kawamura T, Yamashita I. Aryl hydrocarbon receptor is required for prevention of blood clotting and for the development of vasculature and bone in the embryos of medaka fish, *Oryzias latipes* [J]. *Zoological Science*, 2002, **19**(3): 309-319.
- [182] Li P P, Yan X T, Zhang J H, *et al.* Effects of lead exposure on development of heart and spine in zebrafish embryos [J]. *Journal of Environmental and Occupational Medicine*, 2023, **40**(2): 196-201. [李萍萍, 闫晓涛, 张金花, 等. 铅暴露对斑马鱼胚胎心脏和脊柱发育的影响 [J]. 环境与职业医学, 2023, **40**(2): 196-201.]
- [183] Liu W, Pan Y, Yang L, *et al.* Developmental toxicity of TCBCPA on the nervous and cardiovascular systems of zebrafish (*Danio rerio*): a combination of transcriptomic and metabolomics [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2023(127): 197-209.
- [184] Zhong X, Kang J, Qiu J, *et al.* Developmental exposure to BDE-99 hinders cerebrovascular growth and disturbs vascular barrier formation in zebrafish larvae [J]. *Aquatic Toxicology*, 2019(214): 105224.
- [185] Xing, X, Kang J, Qiu J, *et al.* Waterborne exposure to low concentrations of BDE-47 impedes early vascular development in zebrafish embryos/larvae [J]. *Aquatic Toxicology*, 2018(203): 19-27.
- [186] Huang Q, Fang C, Wu X, *et al.* Perfluorooctane sulfonate impairs the cardiac development of a marine medaka (*Oryzias melastigma*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, **105**(1/2): 71-77.
- [187] Zhang Y, Huang L, Zuo Z, *et al.* Phenanthrene exposure causes cardiac arrhythmia in embryonic zebrafish via perturbing calcium handling [J]. *Aquatic Toxicology*, 2013(142): 26-32.
- [188] Wu M, Wu D, Wang C, *et al.* Hexabromocyclododecane exposure induces cardiac hypertrophy and arrhythmia by inhibiting miR-1 expression via up-regulation of the homeobox gene *Nkx2.5* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016(302): 304-313.
- [189] Duan J, Hu H, Li Q, *et al.* Combined toxicity of silica nanoparticles and methylmercury on cardiovascular system in zebrafish (*Danio rerio*) embryos [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2016(44): 120-127.
- [190] Huang L, Wang C, Zhang Y, *et al.* Benzo[a]pyrene exposure influences the cardiac development and the expression of cardiovascular relative genes in zebrafish (*Danio rerio*) embryos [J]. *Chemosphere*, 2012, **87**(4): 369-375.
- [191] Teixidó E, Barenys M, Piqué E, *et al.* Cardiovascular effects of pcb 126 (3, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl) in zebrafish embryos and impact of co-exposure to redox modulating chemicals [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, **20**(5): 1065.
- [192] King-Heiden T C, Mehta V, Xiong K M, *et al.* Reproductive and developmental toxicity of dioxin in fish [J].

- Molecular and Cellular Endocrinology*, 2012, **354**(1/2): 121-138.
- [193] Pang S, Gao Y, Li A, *et al.* Tetrabromobisphenol A perturbs erythropoiesis and impairs blood circulation in zebrafish embryos [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, **54**(20): 12998-13007.
- [194] Ren L, Wang Y, Ren Y, *et al.* Phenanthrene perturbs hematopoietic development and causes hematopoietic defects in zebrafish [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2025(151): 573-581.
- [195] Shi G, Cui Q, Pan Y, *et al.* 6:2 Chlorinated polyfluorinated ether sulfonate, a PFOS alternative, induces embryotoxicity and disrupts cardiac development in zebrafish embryos [J]. *Aquatic Toxicology*, 2017(185): 67-75.
- [196] Shi X J, Liu C S, Yu K, *et al.* Toxicological study on environmental endocrine disruptors [J]. *Progress in Chemistry*, 2009, **21**(S1): 340-349. [史熊杰, 刘春生, 余珂, 等. 环境内分泌干扰物毒理学研究 [J]. 化学进展, 2009, **21**(S1): 340-349.]
- [197] Li J, Ge W. Zebrafish as a model for studying ovarian development: Recent advances from targeted gene knockout studies [J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2020(507): 110778.
- [198] Maradonna F, Meccariello R. EDCs: Focus on Reproductive Alterations in Mammalian and Nonmammalian Models [M]. *Environmental Contaminants and Endocrine Health*. Amsterdam: Elsevier, 2023: 89-108.
- [199] Xia S, Zhao Y B, Yang M Q, *et al.* Induction of vitellogenin gene expression in medaka exposed to glyphosate and potential molecular mechanism [J]. *China Environmental Science*, 2013, **33**(9): 1656-1663. [夏爽, 赵砚彬, 杨鸣琦, 等. 草甘膦对青鳉鱼卵黄蛋白原的诱导及其潜在分子机理 [J]. 中国环境科学, 2013, **33**(9): 1656-1663.]
- [200] Hani Y M I, Turies C, Palluel O, *et al.* Effects of a chronic exposure to different water temperatures and/or to an environmental cadmium concentration on the reproduction of the threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019(174): 48-57.
- [201] Chen L, Zhang W, Ye R, *et al.* Chronic exposure of marine medaka (*Oryzias melastigma*) to 4, 5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (DCOIT) reveals its mechanism of action in endocrine disruption via the hypothalamus-pituitary-gonadal-liver (HPGL) axis [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, **50**(8): 4492-4501.
- [202] Yan J, Fang L, Zhao Z, *et al.* Adolescent exposure to tris(1, 3-dichloro-2-propyl) phosphate (TCPP) induces reproductive toxicity in zebrafish through hypothalamic-pituitary-gonadal axis disruption [J]. *Science of the Total Environment*, 2024(953): 176096.
- [203] McAllister B G, Kime D E. Early life exposure to environmental levels of the aromatase inhibitor tributyltin causes masculinisation and irreversible sperm damage in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2003, **65**(3): 309-316.
- [204] Zhu L, Wang L, Fan X, *et al.* Chronic exposure to Bisphenol A resulted in alterations of reproductive functions via immune defense, oxidative damage and disruption DNA/histone methylation in male rare minnow *Gobiocypris rarus* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2021(236): 105849.
- [205] Qiao Y, He J, Han P, *et al.* Long-term exposure to environmental relevant triclosan induces reproductive toxicity on adult zebrafish and its potential mechanism [J]. *Science of the Total Environment*, 2022(826): 154026.
- [206] Li Z, Xian H, Ye R, *et al.* Gender-specific effects of polystyrene nanoplastic exposure on triclosan-induced reproductive toxicity in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Science of the Total Environment*, 2024(932): 172876.
- [207] Yang L, Zhang Y, Hua J, *et al.* Integrated studies on male reproductive toxicity of decabromodiphenyl ethane in zebrafish spermatozoa *ex vivo*, male zebrafish *in vivo*, and GC-1 cells *in vitro* [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2024, **132**(11): 117005.
- [208] Zhao Y, Wang C, Xia S, *et al.* Biosensor medaka for monitoring intersex caused by estrogenic chemicals [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48**(4): 2413-2420.
- [209] Wang C, Zhang S, Zhou Y, *et al.* Equol induces gonadal intersex in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) at environmentally relevant concentrations: comparison with 17 β -estradiol [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, **50**(14): 7852-7860.
- [210] Wang C, An L, Wu S, *et al.* Potential link between equol pollution and field-observed intersex in wild soybean mullets (*Mugil soiuy*) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, **54**(19): 12393-12401.
- [211] Blanton M L, Specker J L. The hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis in fish and its role in fish development and reproduction [J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2007, **37**(1/2): 97-115.
- [212] Zoeller R T, Tan S W, Tyl R W. General background on the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis [J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2007, **37**(1/2): 11-53.
- [213] Eales J, Brown S, Cyr D, *et al.* Deiodination as an Index of Chemical Disruption of Thyroid Hormone Homeostasis and Thyroidal Status in Fish [M]. *Environmental Toxicology and Risk Assessment: Standardization of Biomarkers for Endocrine Disruption and Environmental Assessment: 8th Volume*. ASTM International 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959, 1999: 136-164.
- [214] Terrien X, Fini J B, Demeneix B A, *et al.* Generation of fluorescent zebrafish to study endocrine disruption and

- potential crosstalk between thyroid hormone and corticosteroids [J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, **105**(1/2): 13-20.
- [215] Patrick L. Thyroid disruption: mechanism and clinical implications in human health [J]. *Alternative Medicine Review*, 2009, **14**(4): 326-346.
- [216] Chen J, Zheng L, Tian L, *et al.* Chronic PFOS exposure disrupts thyroid structure and function in zebrafish [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2018, **101**(1): 75-79.
- [217] Wang X, Ling S, Guan K, *et al.* Bioconcentration, biotransformation, and thyroid endocrine disruption of decabromodiphenyl ethane (dbdpe), a novel brominated flame retardant, in zebrafish larvae [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, **53**(14): 8437-8446.
- [218] Pearce E N, Braverman L E. Environmental pollutants and the thyroid [J]. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2009, **23**(6): 801-813.
- [219] Chen X, Walter K M, Miller G W, *et al.* Simultaneous quantification of T4, T3, rT3, 3, 5-T2 and 3, 3'-T2 in larval zebrafish (*Danio rerio*) as a model to study exposure to polychlorinated biphenyls [J]. *Biomedical Chromatography*, 2018, **32**(6): e4185.
- [220] Yi S, Wang J, Wang R, *et al.* Structure-related thyroid disrupting effect of perfluorooctanesulfonate-like substances in zebrafish larvae [J]. *Environmental Science & Technology*, 2024, **58**(1): 182-193.
- [221] Zhang B, Chen F, Xu T, *et al.* The crosstalk effects of polybrominated diphenyl ethers on the retinoic acid and thyroid hormone signaling pathway [J]. *Science of the Total Environment*, 2023, **883**: 163590.
- [222] Horie Y, Nomura M, Okamoto K, *et al.* Effect of thyroid hormone-disrupting chemicals on swim bladder inflation and thyroid hormone-related gene expression in Japanese medaka and zebrafish [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2022, **42**(8): 1385-1395.
- [223] Horie Y, Yamagishi T, Yamamoto J, *et al.* Adverse effects of thyroid-hormone-disrupting chemicals 6-propyl-2-thiouracil and tetrabromobisphenol A on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2023(263): 109502.
- [224] Zhao H J, Xu J K, Yan Z H, *et al.* Microplastics enhance the developmental toxicity of synthetic phenolic antioxidants by disturbing the thyroid function and metabolism in developing zebrafish [J]. *Environment International*, 2020(140): 105750.
- [225] Lam S H, Chua H L, Gong Z, *et al.* Development and maturation of the immune system in zebrafish, *Danio rerio*: a gene expression profiling, in situ hybridization and immunological study [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2004, **28**(1): 9-28.
- [226] Yoder J A, Nielsen M E, Amemiya C T, *et al.* Zebrafish as an immunological model system [J]. *Microbes and Infection*, 2002, **4**(14): 1469-1478.
- [227] Novoa B, Figueras A. Zebrafish: Model for the Study of Inflammation and the Innate Immune Response to Infectious Diseases [M]. *Current Topics in Innate Immunity II*. New York, NY: Springer New York, 2012: 253-275.
- [228] Wei Z, Wang W, Xu W, *et al.* Studies on immunotoxicity induced by emamectin benzoate in zebrafish embryos based on metabolomics [J]. *Environmental Toxicology*, 2024, **39**(1): 97-105.
- [229] Tang L, Qiu W, Zhang S, *et al.* Poly- and perfluoroalkyl substances induce immunotoxicity via the TLR pathway in zebrafish: links to carbon chain length [J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, **57**(15): 6139-6149.
- [230] Pecquet A M, Maier A, Kasper S, *et al.* Exposure to perfluorooctanoic acid (PFOA) decreases neutrophil migration response to injury in zebrafish embryos [J]. *BMC Research Notes*, 2020, **13**(1): 408.
- [231] Pang S, Gao Y, Wang F, *et al.* Toxicity of silver nanoparticles on wound healing: a case study of zebrafish fin regeneration model [J]. *Science of the Total Environment*, 2020(717): 137178.
- [232] Zhang J Y, Huang Y, Li Z T, *et al.* Immunotoxicity of benzotriazole ultraviolet stabilizers in adult zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2023, **18**(3): 285-295. [张继晔, 黄莹, 李志彤, 等. 苯并三唑紫外光稳定剂对斑马鱼成鱼的免疫毒性 [J]. *生态毒理学报*, 2023, **18**(3): 285-295.]
- [233] Qiao R, Deng Y, Zhang S, *et al.* Accumulation of different shapes of microplastics initiates intestinal injury and gut microbiota dysbiosis in the gut of zebrafish [J]. *Chemosphere*, 2019(236): 124334.
- [234] Zhang J, Ren Z, Chen M. Immunotoxicity and transcriptome analyses of zebrafish (*Danio rerio*) embryos exposed to 6: 2 FTSA [J]. *Toxics*, 2023, **11**(5): 459.
- [235] Cheng Y, Zhan H F, Ni A Y, *et al.* Comparison of triclosan and triclocarban in triggering immunotoxicity in larval zebrafish [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2024, **40**(10): 3765-3780. [程颖, 詹海峰, 倪安煜, 等. 三氯生和三氯卡班对斑马鱼幼鱼的免疫毒性比较 [J]. *生物工程学报*, 2024, **40**(10): 3765-3780.]
- [236] Yao D, Shao J, Jia D, *et al.* Immunotoxicity of legacy and alternative per- and polyfluoroalkyl substances on zebrafish larvae [J]. *Environmental Pollution*, 2024 (358): 124511.
- [237] Liu L, Zhao Q F, Jin K X, *et al.* Toxic effect of nano-ZnO in liver of zebrafish [J]. *Environmental Science*, 2015, **36**(10): 3884-3891. [刘林, 赵群芬, 金凯星, 等. 纳米氧化锌对斑马鱼肝脏的毒性效应 [J]. *环境科学*, 2015, **36**(10): 3884-3891.]
- [238] Jin Y, Zheng S, Fu Z. Embryonic exposure to cypermethrin induces apoptosis and immunotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, **30**(4/5): 1049-1054.

- [239] Tu W, Niu L, Liu W, *et al.* Embryonic exposure to butachlor in zebrafish (*Danio rerio*): Endocrine disruption, developmental toxicity and immunotoxicity [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2013(89): 189-195.
- [240] Yin J, Wang A P, Li W F, *et al.* Time-response characteristic and potential biomarker identification of heavy metal induced toxicity in zebrafish [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018(72): 309-317.
- [241] Robaire B, Delbes G, Head J A, *et al.* A cross-species comparative approach to assessing multi- and transgenerational effects of endocrine disrupting chemicals [J]. *Environmental Research*, 2022(204): 112063.
- [242] Nilsson E E, Ben Maamar M, Skinner M K. Role of epigenetic transgenerational inheritance in generational toxicology [J]. *Environmental Epigenetics*, 2022, **8**(1): dvac001.
- [243] Horzmann K A, Freeman J L. Making waves: new developments in toxicology with the zebrafish [J]. *Toxicological Sciences*, 2018, **163**(1): 5-12.
- [244] Valles S, Hernández-Sánchez J, Dipp V R, *et al.* Exposure to low doses of inorganic arsenic induces transgenerational changes on behavioral and epigenetic markers in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2020(396): 115002.
- [245] Sun Y, Wang X, Guo W, *et al.* Life-time exposure to decabromodiphenyl ethane (DBDPE) caused transgenerational epigenetic alterations of thyroid endocrine system in zebrafish [J]. *Science of the Total Environment*, 2024(950): 175337.
- [246] Kamstra J H, Aleström P, Kooter J M, *et al.* Zebrafish as a model to study the role of DNA methylation in environmental toxicology [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, **22**(21): 16262-16276.
- [247] Nilsson E E, Skinner M K. Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of disease susceptibility [J]. *Translational Research*, 2015, **165**(1): 12-17.
- [248] Zhou Y, Fu J, Wang M, *et al.* Parental and transgenerational impairments of thyroid endocrine system in zebrafish by 2, 4, 6-tribromophenol [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2023(124): 291-299.
- [249] Santangeli S, Consales C, Pacchierotti F, *et al.* Transgenerational effects of BPA on female reproduction [J]. *Science of the Total Environment*, 2019(685): 1294-1305.
- [250] Volkova K, Reyhanian Caspillo N, Porseryd T, *et al.* Transgenerational effects of 17 α -ethinyl estradiol on anxiety behavior in the guppy, *Poecilia reticulata* [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2015(223): 66-72.
- [251] Fiedler S, Schrader H, Theobalt N, *et al.* Standardized tissue sampling guidelines for histopathological and molecular analyses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in ecotoxicological studies [J]. *PLoS One*, 2023, **18**(7): e0288542.

APPLICATION OF SMALL MODEL FISH IN CHEMICAL TOXICOLOGY

LUO Li-Jun¹, ZHOU Yu-Xi², REN Xin-Xin², LI Bing-Jie², XU Zhi-Xiang¹, HUA Jiang-Huan^{2,3},
HAN Jian² and ZHOU Bingsheng²

(1. College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China; 2. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 3. School of Basic Medical Sciences, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

Abstract: The extensive use of chemicals has significantly contributed to societal progress while concurrently causing severe environmental pollution, endangering both ecosystems and human health. Consequently, toxicological studies and health risk assessments of chemicals are essential for effective pollutant risk management. Small model fish species, particularly zebrafish (*Danio rerio*), rare minnow (*Gobiocypris rarus*), and medaka (*Oryzias latipes*), have become invaluable models in environmental toxicology research due to their high degree of evolutionary conservation with mammals. This review comprehensively examines recent advancements in utilizing these small model fish for chemical toxicology research, encompassing standardized toxicity testing protocols, toxicokinetic and bioaccumulation investigations, and multi-level toxicological effect and mechanism studies. Special emphasis is placed on their applications in developmental toxicity, metabolic disruption, neurobehavioral effects, endocrine interference, cardiovascular dysfunction, immunotoxicity, and reproductive toxicity research. Furthermore, we critically evaluate current research limitations and propose future directions to enhance the broader application and development of small model fish in toxicological studies.

Key words: Small model fish; Chemicals; Toxicity testing; Toxicology; Risk assessment