

斑马鱼行为学实验在神经科学中的应用

邹苏琪 殷 梧 杨昱鹏 陈 林 胡 兵*

(中国科学技术大学生命科学学院神经生物与生物物理研究所, 合肥 230027)

摘要 斑马鱼作为新型模式动物的优势正在逐渐被人们所认识, 其应用的领域也越来越广泛. 斑马鱼在神经生物学中的应用, 除了在发育方面比其他模式动物更具优势外, 在行为学方面的应用也更加丰富. 由于斑马鱼幼体在受精后前两天通体透明, 眼睛大小占到大脑体积的二分之一以上, 成鱼昼夜节律明显, 对光反应强烈, 因此斑马鱼在视觉领域应用的优势十分明显. 斑马鱼的嗅觉、听觉器官都在体表可见, 可以很容易地用行为学实验手段对嗅觉和听觉功能进行检测. 斑马鱼习性好动, 利用斑马鱼进行运动方面的行为学观察也非常便利. 斑马鱼具有群聚习性, 在社会生物学研究方面正得到越来越多的关注. 斑马鱼行为学是一种比较简单而又有效地分析神经整合功能的方法, 并形成了许多相关的实验模型.

关键词 斑马鱼, 行为学, 神经科学

学科分类号 Q6

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2008.00403

斑马鱼作为一种新型模式动物, 具有许多与众不同的特点. 与大鼠、小鼠等哺乳动物相比, 斑马鱼的交配行为受光周期控制、产卵量多、受精卵在体外受精、繁殖周期快、易于饲养, 而且前期胚胎整体透明^[1,2]. 与爪蟾、果蝇等低等动物相比, 斑马鱼的基因图谱基本清晰且与人类有很大相似. 正是由于它的众多优点, 斑马鱼在行为学中的应用前景逐渐被研究者所认识^[3~5]. 例如, Matsui 等^[6]研究酒精对发育中的斑马鱼光感受细胞功能所产生的影响时, 通过眼睛对光刺激的阈值来判断酒精的影响程度. Bretauud 等^[7]在吗啡对斑马鱼选择经验依赖性的研究中, 通过检测斑马鱼在不同浓度吗啡中的停留时间来定义它对吗啡的偏好性.

行为学的检测相对比较简单, 是一种直观的、宏观上的检测控制因子最终在生命体内与其他正常功能之间的相互协调能力的方法. 在某些有限的条件下, 行为学检测是一种比较经济、便捷和有效的方法. 在计算机和相应软件技术的引入之后, 行为学实验不仅变得更加简单快捷, 而且可以定量或是高通量地研究行为的改变. 行为学实验是在动态与整体的水平上研究生命活动的本质, 是对形态、电生理检测的一种必要的补充. 本文就斑马鱼行为学在神经领域的应用做一扼要概述.

1 视觉行为学

斑马鱼是一种典型的白昼活动和具有较好视觉功能的鱼类, 视网膜面积为 $(3.04 \pm 0.29) \text{ mm}^2$, 厚度为 $(167.5 \pm 12.5) \mu\text{m}$, 视网膜细胞层可分为 10 层, 神经节细胞总数量约为 40 000~56 000 个, 感光细胞层(包括色素上皮层)与神经网膜厚度比值约为 1:1.3^[8]. 顶盖是鱼脑中高度发达的部分, 视觉信息通过视交叉投射至对侧顶盖, 而很少投射至同侧顶盖. 视觉信息输入在斑马鱼群聚^[9,10]、捕食^[11]、逃避^[12]等高级神经活动中都占主导地位. 已经报道过的视觉行为学实验有: 惊恐反应(startle response)、趋光反应(phototaxis)、眼动反应(optokinetic response)、视动反应(optomotor response)、逃避反应(escape response)和背光反应(dorsal light reflex)等.

1.1 惊恐反应(startle response)

斑马鱼的惊恐反射是一种可以由视觉、听觉与嗅觉诱导的明显的生理反应. 惊恐反应可以用来简单地检测斑马鱼的视觉功能是否正常. 视觉正常的

* 通讯联系人. Tel/Fax: 0551-3602489

E-mail: bhu@ustc.edu.cn, <http://zebrafish.ustc.edu.cn>

收稿日期: 2008-06-04, 接受日期: 2008-07-31

斑马鱼在经过一段时间的适应后，如其所在区域的光线突然变暗或者变亮，它会有一个迅速地逃脱该区域的动作。Easter 等^[13]进一步研究表明，斑马鱼的惊恐反应是在受精后 68 h(hour post-fertilization, hpf)产生的，虽然这时斑马鱼的眼睛还在形成当中，而且视网膜神经元的突触也正在建立。斑马鱼发育到 96 hpf 后，由于幼年斑马鱼具有自由运动的能力，对惊恐反应的检测将变得比较困难，因此对斑马鱼突变体的检测一般不使用该行为学方法^[14]。

1.2 趋光反应(phototaxis)

斑马鱼的趋光反应是指斑马鱼在黑暗环境下会趋向于有光的环境，但这种行为学实验一般也不用于突变体的检测。在一个一分为二的水缸中，无论是刚开始时两边都处于光照环境然后将一边遮光，还是刚开始两边都为黑暗环境然后将一边光照，斑马鱼都将趋向于有光照的一边。这种行为在幼年斑马鱼和成年斑马鱼中都可以表现出来^[14]。该行为学有时可以用来简单地检测斑马鱼的视觉功能，但是这种反应不是十分地强烈，因为有实验显示在经过 5 min 的暴露之后，也只有 85%左右的斑马鱼迁移到光照的一边^[15]。

1.3 眼动反应(optokinetic response, OKR)

眼动反应是检测斑马鱼视觉相关基因突变的经典行为学实验。受精后第 3 天(day post-fertilization, dpf)开始，幼鱼在光适应一段时间后会就对移动的光栅进行注视，如果光栅是在一个围绕幼鱼的圆筒上移动时(图 1)，幼鱼的眼睛就会一直追随光栅直到其眼睛不能再转动，然后就会有一个急速的眼颤动以回复到最初水平。之后又进行下一个追随反应，如此循环^[16,17]。斑马鱼所在培养皿的正上方放置一个数码摄像机对其眼动进行实时记录，然后用专门的软件分析眼睛与体轴的夹角，从而可以筛选

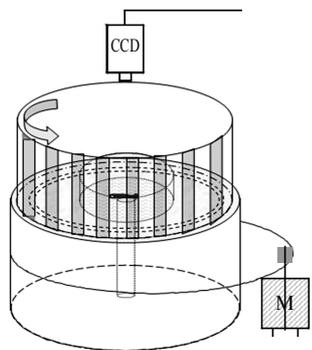


Fig. 1 The apparatus of OKR

图 1 眼动反应装置

光栅在圆筒上转动时，斑马鱼的眼睛会一直追随其运动，当不能再转动眼睛时又回复到最初状态，继续下一个追随动作(仿 Neuhauss, 2003)。

出视觉功能存在缺陷的个体。Streisinger 在第一次将斑马鱼作为模式动物的时候就已经注意到这种现象，他们最早应用了斑马鱼的眼动反应和视动反应来筛选视觉缺陷的个体。

当光栅是由圆筒上的黑白条纹产生时，调整条纹的宽度可以调节刺激的空间频率，而调整圆筒的转速可以调节刺激的时间频率。当使用数码投影时，可以对黑白条纹的光栅进行相应的傅立叶变换，产生一组带有第二信息(second-order)的光栅刺激。Orger 等^[18]的实验证实，幼年斑马鱼不仅可以对第一刺激指令起反应，也可以对第二刺激指令起正确的反应。然而有意思的是，人类对这种次级指令的视觉认知是在视皮层中进行的，可是斑马鱼却没有视皮层。因此，作者提出对刺激指令信号的提取可能在低等脊椎动物的神经回路中就已经形成的观点。

报道中斑马鱼适合做 OKR 的年龄是在 73~80 hpf 时期，成鱼暂时还没有相关的 OKR 报道。这是因为幼鱼可以通过体表呼吸，当幼鱼固定在甲基纤维素中进行视动反应时并不会因为窒息而死，但是成年斑马鱼在甲基纤维素固定的情况下鳃部不能张合以致死亡^[17]。不过我们进行的实验表明，用特定的方法固定成鱼头部与身体，同样实验条件下也可以看到明显的 OKR(实验数据未发表)。

1.4 视动反应(optomotor response, OMR)

视动反应是指斑马鱼对移动的目标有一种追逐的行为，该反应可以用来检测幼鱼和成鱼的视觉相关基因突变。

幼年斑马鱼发生明显视动反应的时期一般在 7 dpf 左右^[19]。将幼鱼放在一个狭窄的长方形水缸中，在鱼缸底部放置一个显示器，当显示器中的光栅朝向某个方向运动时，斑马鱼会朝着光栅移动的方向运动。多条鱼进行实验时，光栅发散或聚集，鱼群会表现出相应的群体反应(图 2)。通过不断变

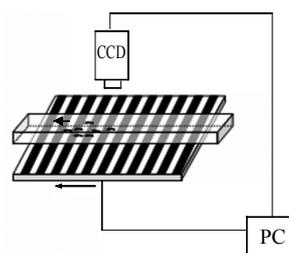


Fig. 2 The apparatus of larval OMR

图 2 幼鱼视动反应装置

屏幕光栅的发散或汇聚，鱼群表现出相应的效应，视觉缺陷的个体追随程度较差(仿 Neuhauss, 2003; Fleisch, 2006)。

换光栅的呈现模式, 可以筛选那些对光栅方向改变反应迟钝的个体, 以达到筛选视觉基因缺陷体的目的. 因为可以将多个鱼缸并联使用, 由此可见这是一种高通量的筛选方法.

成年斑马鱼的视动反应装置与幼年斑马鱼的眼动反应装置有点类似(图 3). 斑马鱼在一个透光性好的圆形鱼缸中可以自由游动, 鱼缸中放置一个小圆柱以阻挡斑马鱼穿过中心区域游动. 在鱼缸的外围放置一个可以转动的塑料圆柱, 塑料圆柱上贴上一张黑白条纹相间的白纸, 在环形光源的照射下可以产生一组具有时间频率和空间频率的光栅. 当光栅转动时斑马鱼会追随光栅围绕鱼缸做圆周运动, 改变光栅的转动方向, 斑马鱼会对移动方向做出相应的调整. Maaswinkel 等^[20]的研究发现, 斑马鱼对低空间频率的光栅刺激会有一个明显的追随反应, 而对于高空间频率具有频率选择作用, 对于时间频率的反应取决于光栅的空间频率, 固定空间频率的情况下不同时间频率有不同的追随偏好.

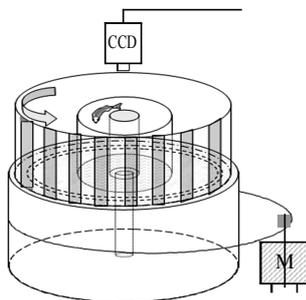


Fig. 3 The apparatus of adult optomotor response(OMR)

图 3 成鱼视动反应装置

光栅转动时, 斑马鱼会追随光栅绕鱼缸做圆周运动, 视觉存在缺陷的个体反应跟随性不好 (仿 Neuhauss, 2003; Fleisch, 2006).

1.5 逃避反应(escape response)

Li 等^[19]1997 年曾使用该行为来定量地分析斑马鱼的视觉敏感性. 斑马鱼放在一个类似于成年斑马鱼视动反应的装置中(图 4), 外周的转筒上涂上一个某种颜色的条带或图案. 正常情况下斑马鱼会绕挡筒做缓慢的游动, 当条带刺激出现在斑马鱼的视野中时, 斑马鱼会迅速地决定是否要游开这个区域以躲避这个“捕食者”. 这种逃脱行为一般情况下是很明显的, 正常的野生型斑马鱼在 50 次刺激当中会有 42 次左右的正向逃脱行为^[19]. 如果成年斑马鱼对某个颜色习惯之后可以更换一种颜色刺激. 调节刺激条带的光学强度, 可以检测斑马鱼逃避反应的激发阈值.

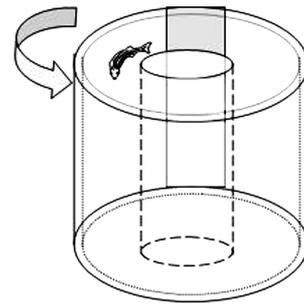


Fig. 4 The apparatus of adult escape response

图 4 逃避反应装置

当条带刺激突然出现在斑马鱼的视野中时, 它会迅速地游离该区域 (仿 Neuhauss, 2003; Fleisch, 2006).

1.6 背光反应(dorsal light reflex, DLR)

斑马鱼野外生存环境中太阳光从其背部投射下来, 因此它们都有一个背向光源的习性, 这个反应一般需要身体平衡感觉和视觉的参与. 将斑马鱼倒置或倾斜在一个比较狭小的玻璃管中, 光源从鱼的侧面投射过来时, 斑马鱼会转动身体以背对光源. 而当光源绕着玻璃管缓慢旋转时, 它也会缓慢地旋转着自己的身体. 这个反应在斑马鱼的视觉功能检测中可以简单地检测不同波长的视觉敏感性. 但是 Nicolson 等^[21]的研究指出, 在斑马鱼的背光反应中, 发生明显旋转障碍的鱼是那些平衡感觉存在缺陷的突变体, 而视觉信息在其中的作用不是十分重要.

2 听觉行为学

相对哺乳类动物而言, 斑马鱼虽然也是用毛细胞探测外界的声音振动, 但是斑马鱼没有外耳与中耳相关结构. 其毛细胞暴露在外, 内耳与鱼鳔之间有一个 Weberian 听骨链, 在 5 dpf 后, 斑马鱼的鱼鳔开始充气, 声音可以在空气中产生共振, 然后通过 Weberian 听骨链传到内毛细胞产生听觉. 5 dpf 之后, 幼鱼与成鱼听觉的频率范围、听觉敏感性和反应潜伏期基本都相同^[22]. Higgs 等^[23]的研究表明, 5 dpf 之后的幼鱼与成年的斑马鱼听觉范围都在 100 ~ 4 000 Hz, 而 10 ~ 25 mm 大小的幼鱼随着 Weberian 听骨链的增长, 其最佳频率与身体的长度呈线性相关. 缩小成年斑马鱼的鱼鳔体积能够降低斑马鱼的最佳听觉频率, 这显示成年斑马鱼的听力在很大程度上受鱼鳔中空气共振的影响^[22].

斑马鱼的内耳除了具有声音感觉之外, 还有一个重要的功能是运动感觉功能. 在椭圆囊与球囊内

有一些碳酸钙晶体等耳石结构, 通过耳石与毛细胞纤维之间的相对运动以感知其空间运动. 斑马鱼的侧线系统也具有毛细胞, 这些毛细胞的胞体被一些支持细胞包裹形成独立的神经丘(neuromast), 通过毛细胞的机械变化来感知水流的变化^[24]. 侧线系统在斑马鱼的聚群和逃避捕食者方面具有较大的作用. 由于斑马鱼幼鱼的透明性和斑马鱼的毛细胞在体表等优点, 斑马鱼在听觉实验中也具有广泛的应用.

2.1 简单行为学

在斑马鱼的内耳结构中, 当前庭受损时, 严重损伤的是其平衡感觉. 对平衡感觉的检测, 有一种简单的方法是观察其游泳的姿势来判断其前庭功能的正常与否. 正常的斑马鱼应该是背部朝上, 俯视情况下看不到其两侧的条纹, 而 *sputnik* 基因型斑马鱼却是以头尾拍的方式侧向运动, *cosmonaut* 基因型表现的是以头部为轴的风车式运动^[25].

2.2 前庭眼动反射 (vestibulo-oculomotor reflex, VOR)

将斑马鱼的鱼卵在滚筒中孵化, 调节滚筒的速度可以使得鱼卵以正圆形的轨迹运动, 而不至于碰壁影响其发育. 在经过这样处理的鱼卵孵化出来后, 其眼睛发育并没受到影响, 但是前庭感觉功能受到严重影响. 轻触斑马鱼的身体, 它会有一个迅速的逃避反应出现. 当在斑马鱼的背部照射光时, 实验组与对照组的表现都很正常, 但是当光源从斑马鱼的腹部照射时, 实验组斑马鱼的逃脱轨迹偶尔会出现螺旋形状, 甚至上下颠倒^[26].

2.3 惊恐反射(startle response)

听觉的惊恐反射是指在突然地呈现比较强烈的声音刺激时, 斑马鱼表现出一种逃避的反应. 图 5 所示的装置常用来筛选在听觉方面存在缺陷的斑马

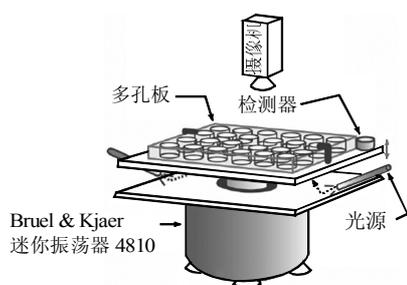


Fig. 5 The apparatus of larval evoke responses (Zeddies, 2005)

图 5 听觉惊恐反应装置

通过振动模仿声音刺激, 听觉正常的斑马鱼表现出惊恐反射, 如果未表现出相应的身体摆动, 说明其在听觉上有一定的缺陷.

鱼个体. 在多孔板中每个小孔内放置一条斑马鱼, 将板固定在一个可上下自由移动的半透明板上, 半透明板与下方的振荡器相连. 在振荡器与半透明板之间有一个不透明的板, 通过光线斜照在不透明板上反射出弥散光照射在多孔板上. 在多孔板的正上方有一个 CCD 数码相机进行实时拍摄, 通过电脑控制振荡与拍摄的时间, 可以连续观测到斑马鱼对振荡刺激的反应. 振荡器模仿声音刺激对多孔板底座的挤压作用, 通过相关的压力转换, 可以将震荡的加速度等参数转化为声压级强度, 从而达到研究声学功能的目的^[22].

此外还有一种直接使用声音刺激的实验模式, Bang 等^[27]直接使用扬声器代替了前面使用的震荡器, 多孔板的数目可以适当地增减. 其原理基本一致, 声音刺激会使鱼有一个逃避反应. 如果通过分析发现, 在有声音刺激条件下斑马鱼并不表现出相应的惊恐反应, 那么就可以判断其有听觉功能上的缺陷.

3 嗅觉行为学

嗅觉神经是神经系统中再生与替换最频繁的部分, 在人类等哺乳类动物中, 嗅觉上皮细胞在经历过一段时间的暴露之后要被更换, 神经回路也得重新形成稳定的连接. 因此, 嗅觉神经回路也是研究神经再生的最佳模型之一.

斑马鱼的鼻孔被一瓣状皮肤膜分为前鼻孔和后鼻孔两部分, 在斑马鱼游动或是水流冲刷时, 水流夹带着其中的嗅觉信号分子从前鼻孔进入, 信号分子与嗅觉上皮细胞反应后, 水沿后鼻孔流出^[28].

4 dpf 时期卵黄所提供的营养基本消耗殆尽, 嗅觉感受的快速形成对其尽快地找到食物具有重要的作用. 此外, 嗅觉经验在斑马鱼的社会学习、捕食逃避、群聚与求偶等行为中也具有重要作用. 由于嗅觉缺陷的个体在形体上一般表现不是很明显, 因此行为学检测就是一种简单直接的方法. 由于斑马鱼的水生特性, 嗅觉信号分子可以单一地溶入水中, 以定量地研究各种物质对斑马鱼嗅觉产生的影响, 这是空气介导的嗅觉信号所不可比拟的优势^[29].

简单的嗅觉实验是先将一部分斑马鱼幼鱼在某种中性溶液中适应一段时间, 然后将它们滴在另一种溶液的中间. 如果它们有选择偏好性, 那么它们会散开在溶液的各个角落, 而如果它们厌恶这种溶液分子, 那么它们就会聚集在中性溶液中而不想离开^[30]. 此外还有一种 Y 迷宫实验: 一个矩形的水缸

中, 用一块挡板将一、四象限分开, 在第一、四象限分别开一个小口, 作为进水口与出水口. 当一种气味分子在第一象限释放, 由于分子的扩散运动, 其在第一、二、三、四象限的分布不均匀(图 6). 因此预暴露在不同溶液的实验组在 Y 迷宫中偏好性选择空间是不一样的, 这可以用来筛选对各种嗅觉分子存在缺陷的斑马鱼相关突变体^[30, 31]. 对于幼鱼的嗅觉分子偏好性实验, 还有一种方法是将一群斑马鱼幼鱼放在一个开有小孔的培养皿中, 气味溶液用一根小管引进然后从小孔流出. 斑马鱼幼鱼在培养皿中的运动轨迹可以用摄像机进行跟踪分析, 从而定量地分析斑马鱼的嗅觉行为^[32].

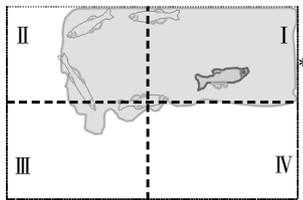


Fig. 6 The schematic diagram of Y-maze

图 6 Y 迷宫实验示意图

气味分子从星号位置开始弥散, 不同区域的密度分布不同, 斑马鱼对不同位置具有不同的选择偏好 (仿 Harden, 2006).

4 运动行为学

早期的运动反应主要表现为触摸反应, 当轻轻触摸斑马鱼幼鱼的尾部时, 斑马鱼会表现出迅速的逃脱反应, 这种反应对于幼鱼逃避天敌是十分必要的. 该反应的一个显著特征就是在其反应的最初阶段有个十分明显的身体弯曲. 记录中最快的速度变化是在 10 ms 内幼鱼的头部可以接触到它的尾巴^[33]. 另外, Louis 等研究了 36~48 hpf 时期斑马鱼幼鱼在触摸反应中的摆尾能力. 将幼鱼的头部和卵黄囊部位用琼脂包埋只留下身体与尾部能够自由运动, 实验显示 *ennui* 基因型的幼鱼在 36 hpf 时期摆尾速度与野生型相比有 18% 的降低, 而在 48 hpf 时期的降低幅度则达到了 52%^[34].

关于运动神经元的负责机制, 之前的研究认为, 中脑对于早期的自发性运动并不是必需的, 但是对于成熟的斑马鱼来说, 中脑部分是运动所必需的. 不过近来的研究表明, 即使在生命的后期, 那些自发性的运动也可以在没有中脑的情况下进行^[35], 斑马鱼的节律性运动神经元在去大脑的情况下也可以继续对刺激做出反应^[36].

在斑马鱼的运动行为分析过程中, Viewpoint Videotrack for Zebrafish™ 系统是一个分析运动轨迹的软件. Winter 等^[37]利用该系统分析幼年斑马鱼的运动轨迹时定义慢速游动 (< 5 mm/s)、中速游动 (5 mm/s ≤ v ≤ 20 mm/s) 和快速游动 (> 20 mm/s) 3 种状态, 计算快速游动在整个运动期间所占的百分比, 以此评价戊四唑对幼年斑马鱼癫痫发作的诱导作用.

5 行为学与高级神经活动

在高级神经活动中, 斑马鱼实验模型在学习与记忆中的应用将比果蝇、海兔等更加广泛. 斑马鱼的学习可以在很多行为中得到体现, 如社会交流、觅食、航行及捕食逃避等. 斑马鱼天生的群聚反应也是在特异颜色图案偏好性的学习基础上产生的, 单独饲养并剥夺颜色感觉经验的情况下并不能产生颜色图案偏好性^[38]. 在 Peichel 的研究中^[39], 雄性斑马鱼更加偏好于选择雌性鱼群以获得更多的交配机会, 而雌性更加喜欢与大群的鱼群聚集来得到更大的安全保护. 此外, 聚群行为可以通过增加捕食者捕食的选择来降低个体被捕食的风险, 还可以增加它们觅食及配对成功率, 聚群效应在流体力学中的作用对降低个体的游动阻力也具有较大的作用.

在更加高级的活动中, 斑马鱼的左右大脑也具有某种程度的分工, 这在它的用眼优势中就已经体现出来. 而这种先天性的不对称性, 必然会随着年龄的增长而发生变化. 由于斑马鱼的年龄跨度一般为 2~3 年, 人工饲养条件下的寿命记录最长的为 66 个月^[39, 40], 因此斑马鱼在老龄化中的应用也较广. 而在老年化的过程中, 机体会发生许多较大的变化(如第二年的斑马鱼肌肉就开始萎缩以至于脊椎逐渐弯曲), 这其中必定会有很多行为学上的改变^[41].

在斑马鱼的学习行为实验中, Williams 等^[42]所进行的简单空间记忆实验是结合觅食行为来进行的, Darland 等^[43]应用了 T 迷宫实验来研究斑马鱼的学习能力缺陷对可卡因条件位置偏好性实验 (conditioned place-preference, CPP) 的影响. Darland 发现, *dum* 基因突变体在 T 迷宫实验与 CCP 实验中都表现较差, 而 *jpy*、*gts* 基因突变体在 CPP 中表现较差却在 T 迷宫实验中表现基本正常. 这个实验对于探讨年龄对斑马鱼学习与记忆功能的影响具有较大的参考价值.

斑马鱼的一些学习与记忆能力也发生在一些比

较高级的神经功能中, 视动反应中斑马鱼对视觉第二指令刺激的反应是一个知觉学习的例子. Orger 等^[48]的研究证实, 在幼年斑马鱼的 OMR 中, 斑马鱼不仅对第一指令的视觉刺激表现出相应的反应, 而且在第二指令的刺激模式下, 即使第一刺激指令被一些随机的点阵所隐藏, 斑马鱼还是能够处理相关的刺激并朝向正确的方向.

作为一种白昼活动的鱼类, 斑马鱼有明显的昼夜节律, 体内的激素水平也会有一个周期性的变化, 尤其是褪黑激素的水平. Rawashdeh 等的研究表明, 褪黑激素的水平可以影响斑马鱼的记忆力^[44, 45]. 此外, Frank 等^[46]在 2001 年发现, 在猫的视皮层可塑性中, 睡眠可以影响视觉功能的再生, 这给斑马鱼的再生研究提供了一个很好的参考. 有意思的是, 斑马鱼也会发生昼夜节律性的睡眠, 在睡眠当中, 它们选择的姿势一般有两种, 或者是头朝下浮在水中, 或者是两胸鳍撑在鱼缸底部. 对于睡眠时期的行为观察, 一般常用的手段是使用具有红外线感应功能的照相机, 分析其呼吸频率、心跳频率和腮动频率, 再结合电生理方面的知识, 从而对斑马鱼的睡眠有一个较全面的了解^[47].

野外条件下, 当斑马鱼在下雨天或是在浑浊的水中游动时, 其视觉感知功能十分有限, 因此除了嗅觉可能在这其中起作用外, 还有可能磁场感知功能也会发挥作用, 这在斑马鱼的迁移过程中显得更加重要. Walker 等^[48]的实验证明, 斑马鱼具有磁场感知功能, Shcherbakov 等^[49]证明了斑马鱼的磁场感知功能在其学习与记忆过程中可以发挥相应的作用. 对斑马鱼的社会学研究, 有助于了解更加高级的神经活动及知觉学习的本质, 对了解生物体在复杂情况下与环境或同种类其他个体间是如何相互协调的具有较大参考价值.

斑马鱼行为学实验是一种简单快速地检测各种因子对斑马鱼活动影响的手段, 可以应用在神经生物学各个领域, 包括视、听、触、嗅、味、运动、社会心理和磁场感知等方面. 现代分子生物学的进步越来越快, 神经研究的手段越来越趋向于了解神经电活动及行为表现的分子机制, 这为斑马鱼的行为学研究提供了一个清晰的方向. 计算机技术的大力发展和普及, 使得行为学实验越来越智能化和高级神经功能化, 高级神经功能方面学习与记忆的研究、群聚效应中社会心理学的研究以及在模拟环境中高级认知功能的研究, 将成为斑马鱼行为学方面进一步拓展的方向.

参 考 文 献

- 1 孙智慧, 贾顺姬, 孟安明. 斑马鱼: 在生命科学中畅游. 生命科学, 2006, **18**(5): 431~436
Sun Z H, Jia S J, Meng A M. Chin Bull Life Sci, 2006, **18**(5): 431~436
- 2 张承梅, 张世栋, 于学慧. 发育生物学的理想动物模型——斑马鱼. 中国实验动物学杂志, 2001, **11**(3): 172~175
Zhang C M, Zhang S D, Yu X H. Chin J Lab Anim Sci, 2001, **11**(3): 172~175
- 3 刘昌盛, 穆宇, 杜久林. 斑马鱼在生命科学研究中的应用. 生命科学, 2007, **19**(4): 382~386
Liu C S, Mu Y, Du J L. Chin Bull Life Sci, 2007, **19**(4): 382~386
- 4 王跃祥, 钟涛, 宋后燕. 斑马鱼发育遗传学研究进展. 国外医学遗传学分册, 2004, **27**(4): 220~223
Wang Y X, Zhong T, Song H Y. Section Genet Foreign Med Sci, 2004, **27**(4): 220~223
- 5 戚飞, 林硕, 樊启昶. 斑马鱼反转录病毒插入突变技术的发展及其在基因饱和突变与筛选中的应用. 遗传学报, 2004, **31**(7): 750~757
Qi F, Lin S, Fan Q C. Acta Genetica Sinica, 2004, **31**(7): 750~757
- 6 Matsui J I, Egana A L, Sponholtz T R, et al. Effects of ethanol on photoreceptors and visual function in developing zebrafish. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, **47**(10): 4589~4597
- 7 Breaud S, Li Q, Lockwood B L, et al. A choice behavior for morphine reveals experience-dependent drug preference and underlying neural substrates in developing larval zebrafish. Neuroscience, 2007, **146**(3): 1109~1116
- 8 周兰霞, 王子仁. 斑马鱼视网膜神经节细胞数量及分布特点. 兰州大学学报, 2000, **36**(6): 93~96
Zhou L X, Wang Z R. J Lanzhou Univ, 2000, **36**(6): 93~96
- 9 Engeszer R E, Barbiano L A, Ryan M J, et al. Timing and plasticity of shoaling behaviour in the zebrafish, *Danio rerio*. Anim Behav, 2007, **74**(15): 1269~1275
- 10 Peichel C L. Social behavior: how do fish find their shoal mate. Curr Biol, 2004, **14**(13): 503~504
- 11 Miklosi A, Andrew R J, Gasparini S. Role of right hemifield in visual control of approach to target in zebrafish. Behav Brain Res, 2001, **122**(1): 57~65
- 12 Bass S L S, Gerlai R. Zebrafish (*Danio rerio*) responds differentially to stimulus fish: The effects of sympatric and allopatric predators and harmless fish. Behav Brain Res, 2008, **186**(1): 107~117
- 13 Easter S S, Nicola G N. The development of vision in the zebrafish, *Danio rerio*. Dev Biol, 1996, **180**(2): 646~663
- 14 Li L. Zebrafish Mutants: Behavioral genetic studies of visual system defects. Develop Dynam, 2001, **221**: 365~372
- 15 Brockerhoff S E, Hurley J B, Janssen-Bienhold U, et al. A behavioral screen for isolating zebrafish mutants with visual system defects. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, **92**(23): 10545~10549
- 16 Fleisch V C, Neuhauss S C F. Visual behavior in zebrafish. Zebrafish, 2006, **3**(2): 191~201
- 17 Neuhauss S C F. Behavioral genetic approaches to visual system

- development and function in zebrafish. *J Neurobiol*, 2003, **54**(1): 148~160
- 18 Orger M B, Smear M C, Anstis S M, *et al.* Perception of fourier and non-fourier motion by larval zebrafish. *Nat Neurosci*, 2000, **3**(1): 1128~1133
- 19 Li L, Dowling J E. A dominant form of inherited retinal degeneration caused by a non-photoreceptor cell-specific mutation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**(21): 11645~11650
- 20 Maaswinkel H, Li L. Spatio-temporal frequency characteristics of the optomotor response in zebrafish. *Vis Res*, 2003, **43**(1): 21~30
- 21 Nicolson T, Rusch A, Friedrich R W, *et al.* Genetic analysis of vertebrate sensory hair cell mechanosensation: the zebrafish circler mutants. *Neuron*, 1998, **20**(2): 271~283
- 22 Zeddies D G, Fay R R. Development of the acoustically evoked behavioral response in zebrafish to pure tones. *J Exper Biol*, 2005, **208**: 1363~1372
- 23 Higgs D M, Rollo A K, Souza M J, *et al.* Development of form and function in peripheral auditory structures of the zebrafish (*Danio rerio*). *J Acoust Soc Amer*, 2003, **113**(2): 1145~1154
- 24 Goodrich L V. Hear, hear for the zebrafish. *Neuron*, 2005, **45**(1): 3~5
- 25 Whitfield T T. Zebrafish as a model for hearing and deafness. *J Neurobiol*, 2002, **53**(2): 157~171
- 26 Moorman S J, Burrell C, Cordova R, *et al.* Stimulus dependence of the development of the zebrafish (*Danio rerio*) vestibular system. *J Neurobiol*, 1999, **38**(2): 247~258
- 27 Bang P I, Yelick P C, Malicki J J, *et al.* High-throughput behavioral screening method for detecting auditory response defects in zebrafish. *J Neurosci Meth*, 2002, **118**(2): 177~187
- 28 Whitlock K E. The sense of scents: olfactory behaviors in the zebrafish. *Zebrafish*, 2006, **3**(2): 203~213
- 29 Korsching S I, Argo S, Campenhausen H, *et al.* Olfaction in zebrafish: what does a tiny teleost tell us. *Semin Cell Develop Biol*, 1997, **8**(2): 181~187
- 30 Vitebsky A, Reyes R, Sanderson M J, *et al.* Isolation and characterization of the *laure* olfactory behavioral mutant in the zebrafish, *Danio rerio*. *Develop Dynam*, 2005, **234**(1): 229~242
- 31 Harden M V, Newton L V, Lloyd R C. Olfactory imprinting is correlated with changes in gene expression in the olfactory epithelia of the zebrafish. *J Neurobiol*, 2006, **66**(13): 1452~1466
- 32 Lindsay S M, Vogt R G. Behavioral responses of newly hatched zebrafish (*Danio rerio*) to amino acid chemostimulants. *Chem Sens*, 2004, **29**(2): 93~100
- 33 Liu K S, Fetcho J R. Laser ablations reveal functional relationships of segmental hindbrain neurons in zebrafish. *Neuron*, 1999, **23**(2): 325~335
- 34 Saint-Amant L, Sprague S M, Hirata H, *et al.* The zebrafish *ennui* behavioral mutation disrupts acetylcholine receptor localization and motor axon stability. *Develop Neurobiol*, 2008, **68**(1): 45~61
- 35 Downes G B, Granato M. Supraspinal input is dispensable to generate Glycine-mediated locomotive behaviors in the zebrafish embryo. *J Neurobiol*, 2006, **66**(5): 437~451
- 36 McDearmid J R, Drapeau P. Rhythmic motor activity evoked by NMDA in the spinal zebrafish larva. *J Neurophy*, 2006, **95**: 401~417
- 37 Winter M J, Redfern W S, Hayfield A J, *et al.* Validation of a larval zebrafish locomotor assay for assessing the seizure liability of early-stage development drugs. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*(2008), oi:10.1016/j.vascn. 2008.01.004
- 38 Spence R, Smith C. The role of early learning in determining social preferences based on visual cues in the zebrafish, *Danio rerio*. *Ethology*, 2007, **113**(1): 62~67
- 39 Fetcho J R, Higashijima S, McLean D L. Zebrafish and motor control over the last decade. *Brain Res Rev*, 2008, **57**(1): 86~93
- 40 Spence R, Gerlach G, Lawrence C, *et al.* The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. *Biol Rev*, 2008, **83**(1): 13~34
- 41 Gerhard G S. Comparative aspects of zebrafish (*Danio rerio*) as a model for aging research. *Experi Geront*, 2003, **38**(11): 1333~1341
- 42 Williams F E, White D, Messer W S. A simple spatial alternation task for assessing memory function in zebrafish. *Behav Proc*, 2002, **58**(3): 125~132
- 43 Darland T, Dowling J E. Behavioral screening for cocaine sensitivity in mutagenized zebrafish. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(20): 11691~11696
- 44 Rawashdeh O, Borsetti N H, Roman G, *et al.* Melatonin suppresses nighttime memory formation in zebrafish. *Science*, 2007, **318**: 1144~1146
- 45 Zhdanova I V, Yu L, Lopez-Patino M, *et al.* Aging of the circadian system in zebrafish and the effects of melatonin on sleep and cognitive performance. *Brain Res Bull*, 2008, **75**: 433~441
- 46 Frank M G, Issa N P, Stryker M P. Sleep enhances plasticity in the developing visual cortex. *Neuron*, 2001, **30**: 275~287
- 47 Zhdanova I V. Sleep in zebrafish. *Zebrafish*, 2006, **3**(2): 215~226
- 48 Walker M M, Diebel C E, Haugh C V, *et al.* Structure and function of the vertebrate magnetic sense. *Nature*, 1997, **390**(27): 371~376
- 49 Shcherbakov D, Winklhofer M, Petersen N, *et al.* Magnetosensation in zebrafish. *Curr Biol*, 2005, **15**(5): 161~162

The Ethology Application of Zebrafish in Neuroscience

ZOU Su-Qi, YIN Wu, YANG Yu-Peng, CHEN Lin, HU Bing*

(Department of Neurobiology and Biophysics, School of Life Sciences,
University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China)

Abstract Zebrafish, as a new model of animal, has been gradually accepted and widely used in biology research due to its special characteristics. Besides its convenience used in development research, the application in ethology is more and more extensively. Because of the transparency before 2 days post-fertilization, the eye size nearly half of the brain and its conspicuous circadian rhythm, zebrafish has been significantly applied in vision research. The organs of olfactory and auditory are both visible on the surface, such structure makes it very easy to detect the olfactory and auditory function by means of behavior experiments. Observation of motion is very convenience as zebrafish's propensity is active. It is also used more and more in social biology research. The behavior test of zebrafish is a simple and effective method to analyze the integrative neuronal function *in vivo* while some experimental models have been established which reviewed as follows.

Key words zebrafish, behavior, neuroscience

*Corresponding author .

Tel/Fax: 86-551-3602489, E-mail: bhu@ustc.edu.cn

Received: June 4, 2008 Accepted: July 31, 2008