

斑马鱼恐惧传染的性别二态性*

陶 鸿, 谭如意, 刘智皓

(重庆师范大学 生命科学学院 水生态健康与环境安全研究实验室, 重庆 401331)

摘要:为探究斑马鱼(*Danio rerio*)恐惧传染是否存在性别二态性,将实验用雌、雄性斑马鱼各自平均分成对照组测试鱼、对照组演示鱼、刺激组测试鱼和刺激组演示鱼,然后进行同性或异性个体间恐惧传染测试。向对照组和刺激组演示鱼分别施加蒸馏水和加内源警戒素溶液,记录并分析同性或异性对照组和刺激组测试鱼与恐惧反应相关的行为学数据。同性个体间恐惧传染测试结果显示:雄性或雌性刺激组测试鱼的首次上浮时间及底部停留时间均明显长于雄性或雌性对照组测试鱼;雄性刺激组和对照组测试鱼的上浮频次及下潜频次无明显差异;雌性刺激组测试鱼的上浮频次及下潜频次明显少于雌性对照组测试鱼。异性个体间恐惧传染测试结果显示:雄性刺激组和对照组测试鱼的所有为学指标均无明显差异;雌性刺激组测试鱼的首次上浮时间及底部停留时间均明显长于雌性对照组测试鱼;雌性刺激组和对照组测试鱼的上浮频次及下潜频次无明显差异。研究结果表明斑马鱼的恐惧传染存在性别二态性,雌性斑马鱼存在同性和异性个体间的恐惧传染,雄性斑马鱼仅对同性个体表现出明显的恐惧传染效应。

关键词:斑马鱼;恐惧传染;性别二态性;内源警戒素

中图分类号:Q492.5

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2025)05-0064-06

情绪传染是动物个体间情绪状态的瞬时匹配,即个体的情绪状态会影响甚至决定旁观者的情绪状态^[1]。情绪传染是同理心(或移情能力)的组成部分及进化先兆,为群体生物提供了重要的适应优势^[1-2]。由于负面情绪来源统一且反应明显,因此对情绪传染的评估通常利用动物的压力、疼痛、恐惧等负面情绪来进行^[3]。目前,恐惧传染被证明普遍存在于斑马鱼(*Danio rerio*)^[4]、小鼠(*Mus musculus*)^[5]、家猪(*Sus scrofa* f. *domestica*)^[6]等低、高等脊椎动物中。恐惧传染能在动物发现捕食者等威胁时促进恐惧在群体成员之间的快速传播,使其他个体能在不直接经历危险的情况下生存下来,对动物生存及种群延续具有重要意义^[7]。另有研究表明,包括恐惧传染在内的情绪传染在人类个体中存在明显的性别差异,即女性比男性更容易受到他人情绪的影响^[8-9]。相反,对大鼠(*Rattus norvegicus*)的研究表明,情绪传染在两性个体中并未表现出明显的差异^[10]。此外,一项关于斑马鱼社会群体传染的研究证明,与雌鱼相比,雄鱼对同类群体的恐惧行为表现出更为强烈的反应,暗示斑马鱼的情绪传染至少在群体传染中可能存在性别差异^[11]。以上研究结果在一定程度上证明了恐惧传染在进化上保守性,但它的性别二态性似乎因物种不同而表现出不同的结果。因此,恐惧传染的性别二态性在脊椎动物尤其是鱼类的进化中是否具有保守性仍有待深入探究。

斑马鱼是一种在生物学研究中被广泛使用的模式生物,相关研究结果在有关鱼类的研究中通常具有较高的代表性^[12]。本研究通过一系列测试实验探究了斑马鱼恐惧传染的性别二态性,希望为人们深入理解动物社会行为提供更新的案例,也为鱼类行为生态学研究提供新的参考资料。

1 材料与方

1.1 实验动物

从中国斑马鱼资源中心购买成年雌雄斑马鱼(AB品系,180日龄)各240尾,实验前于恒温循环水产养殖系统中驯化14d。在驯化期间,水温、溶解氧质量浓度和pH分别为(28±0.5)℃、6.2~7.5 mg·L⁻¹和7.3~

* 收稿日期:2025-03-03 修回日期:2025-04-15 网络出版时间:2025-05-16T09:31

资助项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 31901183);重庆市自然科学基金面上项目(No. cstc2020jcyj-msxmX0805, No. cstc2016jcyjA1032)

第一作者简介:陶鸿,女,研究方向为鱼类生理学,E-mail:1198696663@qq.com;通信作者简介:刘智皓,男,副教授,博士,E-mail:minenut@163.com

网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/50.1165.N.20250507.1635.007

7.6;每日光照时间为 14 h,平均照度为 (800 ± 350) lx;每日投喂山东升索饲料科技有限公司生产的微粒复合饲料 3 次。为避免种内应激,斑马鱼的平均饲养密度保持在 0.8 尾 \cdot L $^{-1}$ 。所有鱼类实验严格按照《实验动物 教学用动物使用指南》进行,并经重庆师范大学实验动物委员会批准(批准号:CKLCUFF20240701-02)。

1.2 实验仪器

本研究使用的主要实验仪器为索尼公司出品的 FDR-AX60 型摄像机、宁波新芝生物科技股份有限公司生产的 SCUENTZ-48 高通量组织研磨器以及湖南湘仪实验室仪器开发有限公司生产的 TG16-W 型微量高速台式离心机。

1.3 实验方法

1.3.1 内源警戒素制备

内源警戒素是一类已被证明能够引起硬骨鱼类恐惧反应的化学物质^[13]。实验室条件下通常用蒸馏水或内源警戒素刺激新缸潜游实验以检测实验鱼的恐惧反应^[14]。本研究参照文献[15]制备内源警戒素溶液,首先将 12 尾斑马鱼置于冰上处死,然后剥取表皮,再将表皮置于蒸馏水中精细研磨并溶解,从而制得表皮组织质量浓度为 1 mg \cdot mL $^{-1}$ 且可在 5 L 水中引起斑马鱼恐惧反应的内源警戒素溶液,并将该溶液储存在 -20 °C 条件下备用。

1.3.2 同性个体间恐惧传染测试

驯化结束后,随机选取雌、雄性斑马鱼各 120 尾进行分组用于同性个体间恐惧传染测试。将雌、雄性斑马鱼各自均分为对照组测试鱼、对照组演示鱼、刺激组测试鱼和刺激组演示鱼,每组 30 尾。其中对照组(或刺激组)演示鱼为对照组(或刺激组)测试鱼的观察对象,在测试时用蒸馏水(或内源警戒素)进行处理;对照组(或刺激组)测试鱼在测试中的行为需要用摄像机进行拍摄。将 2 个长 \times 宽 \times 高均为 25 cm \times 15 cm \times 20 cm 的长方体鱼缸并排放置且间距为 1 cm,在测试时分别放入对照组(或刺激组)测试鱼、演示鱼;缸内水体深度均为 10 cm,且保持水温与驯养期间基本一致。在放置测试鱼的鱼缸中,除供摄像机拍摄测试鱼行为的缸面(后简称拍摄面)及供测试鱼直接观察演示鱼行为的缸面外,其余 3 个缸面上均覆盖白纸以减少外界环境对测试鱼的影响;在拍摄面上划出 1 条水平分隔线将水体均分为上、下层,并在拍摄面正前方 40 cm 处固定 1 台摄像机。在放置演示鱼的鱼缸壁内侧粘贴一段 10 cm 长的医用透明胶管,用于向鱼缸内注入蒸馏水或内源警戒素溶液(图 1)。上述测试配置一共设有 10 组。

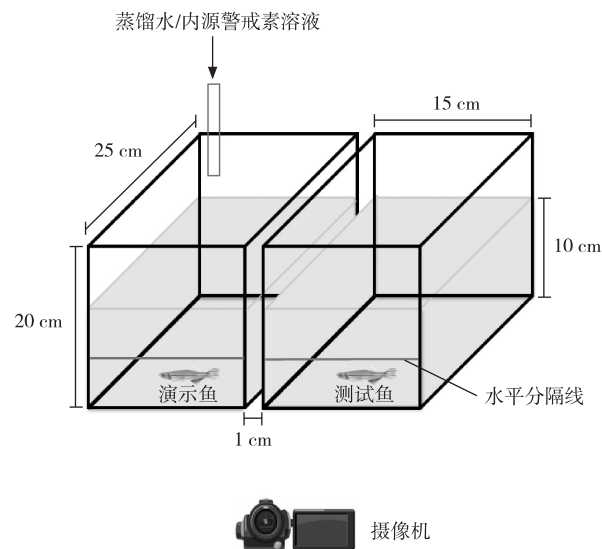


图 1 斑马鱼同性或异性个体间恐惧传染测试实验示意图

Fig. 1 Experimental diagram of zebrafish fear contagion test between the same or opposite sex individuals

在进行同性个体间恐惧传染测试时,首先将同性别的对照组(或刺激组)测试鱼、演示鱼各取 1 尾放入相应的鱼缸中适应环境 10 min;然后向有对照组(或刺激组)演示鱼的鱼缸中加入 1 mL 蒸馏水(或内源警戒素溶液),同时连续 10 min 拍摄有关测试鱼行为的视频,并在此过程中严格控制鱼缸内水温变化幅度不超过 1 °C 以尽可能减少该因素对实验鱼造成影响。测试结束后,对测试鱼同性个体间恐惧传染进行行为学指标分析。

已有研究证明,加入内源警戒素溶液后,斑马鱼会因恐惧而下潜至下层水体,直至恐惧缓解后再上浮或探索

新环境,因此探索行为的减少和首次进入上层水体时间的增加能够体现斑马鱼的恐惧反应强度^[15-16]。因此,为判断雌、雄性斑马鱼是否发生同性个体间恐惧传染,本研究参照文献[17]设计以下行为学指标:1) 首次上浮时间,即测试鱼在观察演示鱼行为后首次跨越水平分隔线从下层水体运动至上层水体的过程中经历的时长(单位:s);2) 底部停留时间,即测试鱼位于下层水体的总时长(单位:s);3) 上浮频次,即测试鱼在 10 min 内跨越水平分隔线从下层水体运动至上层水体的次数;4) 下潜频次,即测试鱼在 10 min 内跨越水平分隔线从上层水体运动至下层水体的次数。

1.3.3 异性个体间恐惧传染测试

将剩余的雌、雄性斑马鱼各 120 尾用于异性个体间恐惧传染测试,测试时将雌性(或雄性)测试鱼和雄性(或雌性)演示鱼各取 1 尾放入相应鱼缸中,然后在有演示鱼的鱼缸中加入蒸馏水(或内源警戒素溶液),同时拍摄有关测试鱼行为的视频。除此以外,其余实验方案均与同性个体间恐惧传染测试相同。

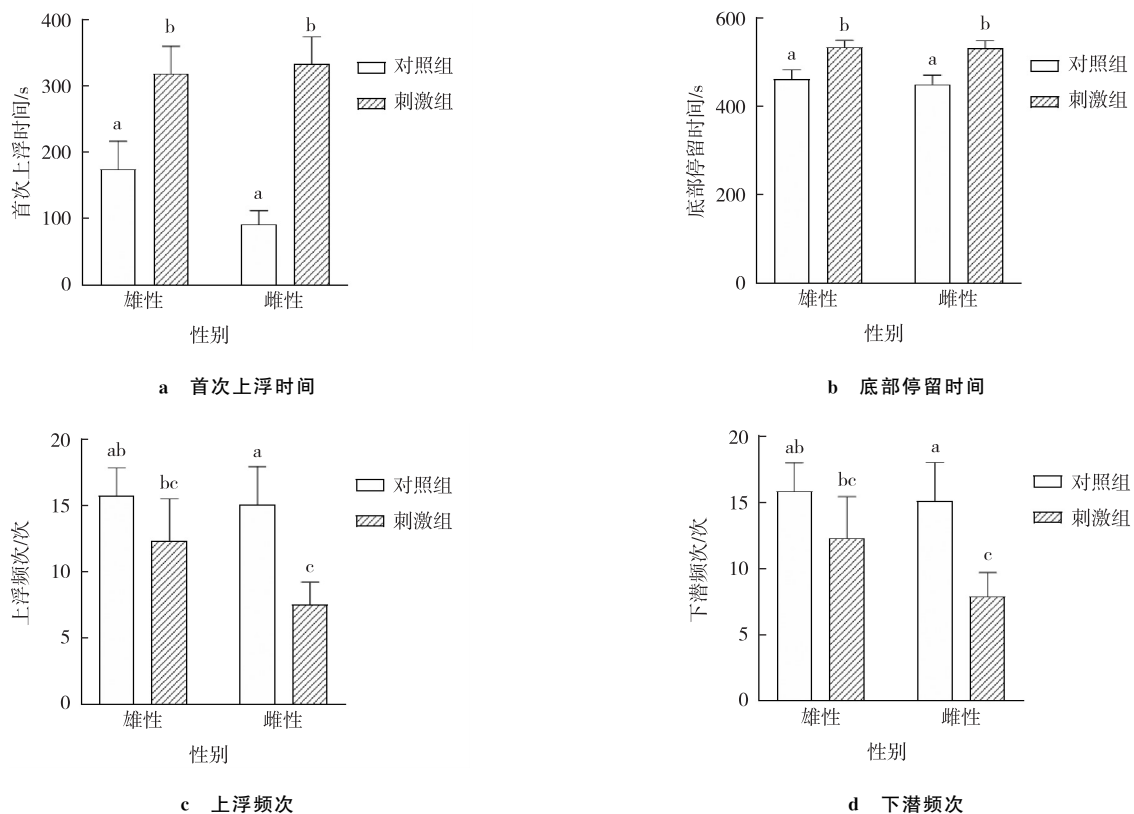
1.4 数据分析

实验数据均以“平均值±标准误”形式表示。首先就内源警戒素或蒸馏水刺激演示鱼后对测试鱼行为的影响进行单因素方差分析,再用 Turkey 法对各组测试鱼行为学数据的差异进行多重比较。所有数据用 SPSS 27.0 软件进行统计分析,当 $p < 0.05$ 时,统计结果具有统计学意义。最后,使用 Prism 8.0.2 软件进行绘图。

2 结果

2.1 同性个体间恐惧传染

由图 2a、b 可知:雄性或雌性刺激组测试鱼的首次上浮时间和底部停留时间均长于同性别的对照组测试鱼,组间数据差异均具有统计学意义($p < 0.05$)。图 2c、d 则显示:雌性刺激组测试鱼的上浮频次及下潜频次均少于雌性对照组测试鱼,组间数据差异均具有统计学意义($p < 0.05$);而雄性刺激组和对照组测试鱼的这 2 个行为学指标数据间均无统计学意义上的差异。



注:不同小写字母表示 4 组测试鱼(样本量均为 30 尾)的数据差异具有统计学意义($p < 0.05$),下同。

图 2 测试鱼面对同性斑马鱼个体时恐惧效应

Fig. 2 The fear effect in test fish when confronted with same-sex individuals

2.2 异性个体间恐惧传染

图 3 显示:雌性刺激组测试鱼在首次上浮时间及底部停留时间上均长于雌性对照组测试鱼,且组间数据差异均具有统计学意义($p < 0.05$),但这 2 组测试鱼的上浮频次及下潜频次均无统计学意义上的差异;而对于雄性刺激组和对照组测试鱼而言,它们所有被测试的行为学指标均无统计学意义上的差异。

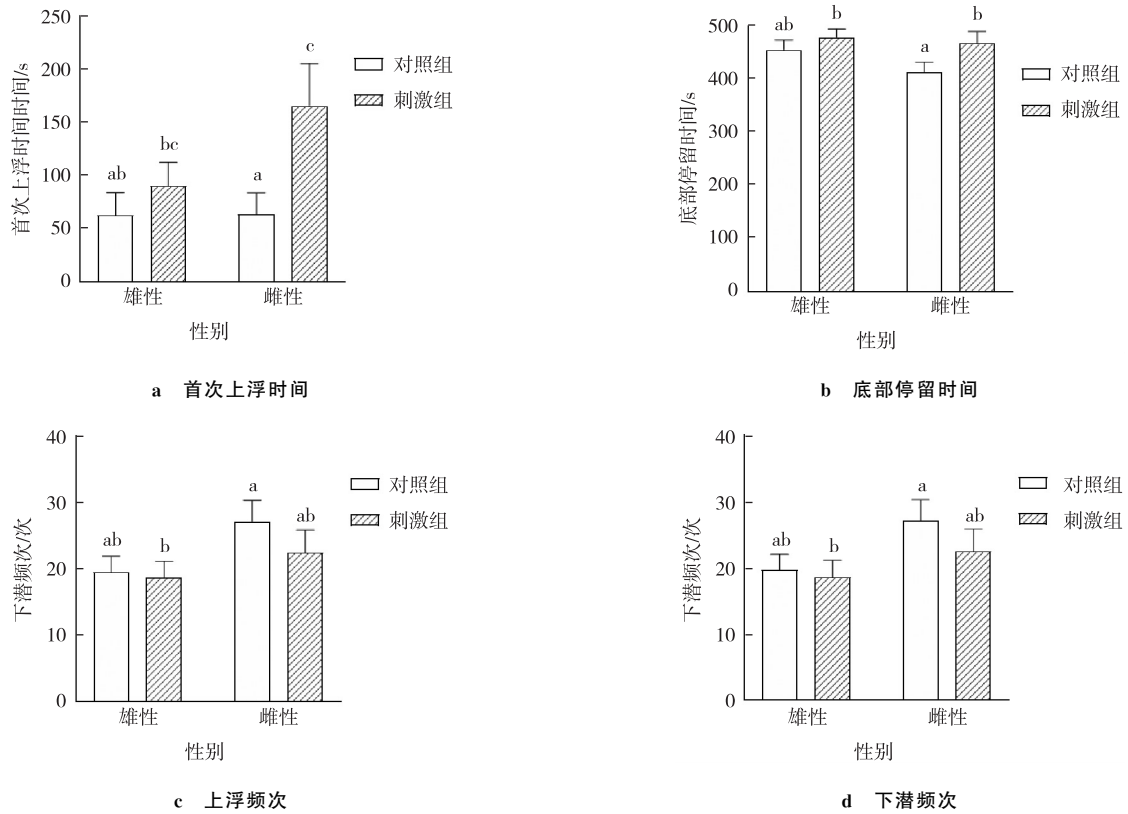


图 3 测试鱼面对异性斑马鱼个体时恐惧效应

Fig. 3 The fear effect in test fish when confronted with opposite-sex individuals

3 讨论与结论

本研究的同性个体间恐惧传染测试结果显示,雄性或雌性刺激组测试鱼的首次上浮时间和底部停留时间都明显长于雄性或雌性对照组测试鱼,而雌性刺激组测试鱼的上浮频次及下潜频次则明显少于雌性对照组测试鱼。这一结果表明同性个体间恐惧传染存在雄性或雌性斑马鱼中,且雌性斑马鱼的同性个体间恐惧传染效应可能强于雄性斑马鱼。作为同理心(或移情能力)的组成部分以及进化先兆,恐惧传染在动物群体中意义重大^[2,7]。斑马鱼作为一种群居鱼类,恐惧传染能够帮助该鱼种在直面危险前采取防御行为,进而协调群体活动,提高生存机会^[7]。由于配子大小和营养需求的差异,成年雌性斑马鱼通常比雄性体型更大^[18],这增加了它们对捕食者的可见度,并导致更高的警觉性以确保存活率^[19]。因此在本研究中,雌性斑马鱼表现出比雄性斑马鱼更强烈的同性个体间恐惧传染效应可能来源于它们对环境较高的敏感性,以及自身较强烈的恐惧响应^[11]。

从本研究的异性个体间恐惧传染测试结果可知,雄性刺激组与对照组测试鱼的所有行为指标均无统计学意义上的变化,表明雄性斑马鱼面对异性个体的恐惧反应时并不表现出明显的恐惧传染效应;然而雌性刺激组测试鱼的首次上浮时间和底部停留时间均明显长于雌性对照组测试鱼,说明雌性斑马鱼的异性个体间恐惧传染效应较为明显。对于斑马鱼而言,雄性通常承担了主导繁殖活动的角色,需要探索领域并与其他雄性个体争夺产卵区以提高繁殖成功率,且通常比雌性表现得更加勇敢^[20-21]。这种在生存策略上的差异,可能让雄鱼将雌鱼产生的恐惧反应误认为是后者过度敏感而造成的不可靠应激反应,因此它们在上述测试中就未能表现出明显的恐惧传染效应。

以上结果表明,斑马鱼的恐惧传染存在一定程度性别二态性:雌、雄性斑马鱼在面对同性个体的恐惧反应时

均能表现出明显的恐惧传染效应,且雌性相对于雄性而言这种效应显得更为强烈;雌性面对异性个体的恐惧反应时也能表现出明显的恐惧传染效应,而雄性则没有表现出明显的异性个体间恐惧传染效应。本研究中,由于斑马鱼仅通过视觉识别行为信号,因此它们的视觉水平对研究结果的解析至关重要。过去的研究表明,雌、雄性斑马鱼都具有成熟的视觉系统和良好的视觉感知能力,在视觉水平上并无明显性别差异^[22]。因此,斑马鱼这种恐惧传染的性别二态性很可能与雌、雄性斑马鱼不同的生殖策略及生活习性有关。雌性斑马鱼更高的生存及生殖压力促使它们对环境保持更高的警觉性,因而无论观察对象是同性还是异性,它们都需要对情绪状态保持敏感以保证自身的生存。雄性斑马鱼对于同性情绪状态的关注和敏感有利于躲避天敌和争夺领地,而对异性个体则不表现出明显的恐惧传染效应,这可能源于雌鱼过高的警觉性所造成的“假应激”效果,使雄鱼保持勇敢并增加自身繁殖成功率。

目前,对脊椎动物情绪传染的性别二态性的研究似乎呈现多样化的结果,这可能与研究方法的多样性有关^[8,10-11]。尽管如此,大量其他动物的研究结果暗示雌性通常拥有更高水平的情绪传染(包括恐惧传染)^[8-9,23],这与本研究结果高度一致。斑马鱼的恐惧传染的性别二态性与高等脊椎动物极为相似,这暗示恐惧传染的性别二态性在脊椎动物中很大程度上是进化保守的。高等脊椎动物恐惧传染的性别二态性被认为与雌、雄性个体间一系列神经机制及激素的差异密切相关^[23-24],因此斑马鱼恐惧传染的性别二态性也可能与上述神经机制和激素的差异有关。

综上所述,斑马鱼的恐惧传染存在性别二态性,雌性斑马鱼存在同性和异性个体间的恐惧传染,雄性斑马鱼仅对同性个体表现出强烈的恐惧传染效应,这种差异可能与斑马鱼的生存策略密切相关,并有利于群体的稳定性和种群的延续。

参考文献:

- [1] NAKAHASHI W, OHTSUKI H. Evolution of emotional contagion in group-living animals[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 2018, 440: 12-20.
- [2] PRESTON S D, DE WAAL F B M. Empathy: its ultimate and proximate bases[J]. *The Behavioral and Brain Sciences*, 2002, 25(1): 1-20.
- [3] CARNEVALI L, MONTANO N, STATELLO R, et al. Social stress contagion in rats: behavioural, autonomic and neuroendocrine correlates[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2017, 82: 155-163.
- [4] FERNANDES SILVA P, GARCIA DE LEANIZ C, LUCHIARI A C. Fear contagion in zebrafish: a behaviour affected by familiarity[J]. *Animal Behaviour*, 2019, 153: 95-103.
- [5] GONZALEZ-LIENCRES C, JUCKEL G, TAS C, et al. Emotional contagion in mice: the role of familiarity[J]. *Behavioural Brain Research*, 2014, 263: 16-21.
- [6] REIMERT I, BOLHUIS J E, KEMP B, et al. Emotions on the loose: emotional contagion and the role of oxytocin in pigs[J]. *Animal Cognition*, 2015, 18(2): 517-532.
- [7] AKINRINADE I, KAREKLAS K, TELES M C, et al. Evolutionarily conserved role of oxytocin in social fear contagion in zebrafish[J]. *Science*, 2023, 379(6638): 1232-1237.
- [8] CHRISTOV-MOORE L, SIMPSON E A, COUDÉ G, et al. Empathy: gender effects in brain and behavior[J]. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2014, 46: 604-627.
- [9] HEIN G, SINGER T. I feel how you feel but not always: the empathic brain and its modulation[J]. *Current Opinion in Neurobiology*, 2008, 18(2): 153-158.
- [10] HAN Y Y, SICHTERMAN B, CARRILLO M, et al. Similar levels of emotional contagion in male and female rats[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 2763.
- [11] AKINRINADE I D, VARELA S A M, OLIVEIRA R F. Sex differences in social buffering and social contagion of alarm responses in zebrafish[J]. *Animal Cognition*, 2023, 26(4): 1307-1318.
- [12] MURALIDHARAN A, SWAMINATHAN A, POULOSE A. Deep learning *Dives*: predicting anxiety in zebrafish through novel tank assay analysis[J]. *Physiology & Behavior*, 2024, 287: 114696.
- [13] VON FRISCH K. Über einen Schreckstoff der Fischhaut und seine biologische Bedeutung[J]. *Zeitschrift Für Vergleichende Physiologie*, 1942, 29(1): 46-145.
- [14] OGAWA S, NATHAN F M, PARHAR I S. Habenular kisspeptin modulates fear in the zebrafish[J]. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(10):3841-3846.
- [15] TAN M L, XIE C T, TU X, et al. Short daylight photoperiod alleviated alarm substance-stimulated fear response of zebrafish [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2023, 338:114274.
- [16] BENCAN Z, LEVIN E D. The role of $\alpha 7$ and $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptors in the nicotine-induced anxiolytic effect in zebrafish [J]. *Physiology & Behavior*, 2008, 95(3):408-412.
- [17] 林艾诺, 李亚茜, 闫志, 等. 新水缸潜水模型在斑马鱼焦虑及应激行为研究中的进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(4):514-523.
- LIN A N, LI Y X, YAN Z, et al. Advances in novel tank diving test for the study of anxiety and stress behaviour in zebrafish [J]. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 2023, 31(4):514-523.
- [18] YANG L D, ZHANG Z L, HE S P. Both male-biased and female-biased genes evolve faster in fish genomes [J]. *Genome Biology and Evolution*, 2016, 8(11):3433-3445.
- [19] MORETZ J A, MARTINS E P, ROBISON B D. Behavioral syndromes and the evolution of correlated behavior in zebrafish [J]. *Behavioral Ecology*, 2007, 18(3):556-562.
- [20] PAULL G C, FILBY A L, GIDDINS H G, et al. Dominance hierarchies in zebrafish (*Danio rerio*) and their relationship with reproductive success [J]. *Zebrafish*, 2010, 7(1):109-117.
- [21] BAATRUP E, HENRIKSEN P G. Disrupted reproductive behavior in unexposed female zebrafish (*Danio rerio*) paired with males exposed to low concentrations of 17 α -ethinylestradiol (EE2) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2015, 160:197-204.
- [22] HAUG M F, BIEHLMAIER O, MUELLER K P, et al. Visual acuity in larval zebrafish: behavior and histology [J]. *Frontiers in Zoology*, 2010, 7(1):8.
- [23] MCDONALD B, KANSKE P. Gender differences in empathy, compassion, and prosocial donations, but not theory of mind in a naturalistic social task [J]. *Scientific Reports*, 2023, 13:20748.
- [24] FILKOWSKI M M, OLSEN R M, DUDA B, et al. Sex differences in emotional perception: meta analysis of divergent activation [J]. *NeuroImage*, 2017, 147:925-933.

Animal Sciences

Sexual Dimorphism in Fear Contagion in Zebrafish

TAO Hong, TAN Ruyi, LIU Zhihao

(Laboratory of Water Ecological Health and Environmental Safety Research, School of Life Sciences,
Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: To investigate whether fear contagion in zebrafish (*Danio rerio*) exhibits sexual dimorphism, both male and female zebrafish used in the experiment were divided into control males, stimulated males, control females, and stimulated females. Subsequently, fear contagion tests between same/opposite-sex individuals were conducted on these groups. Distilled water and alarm substance were administered to demonstrator fish in the control group and stimulus group, respectively. Behavioral data related to fear responses were recorded and analyzed. Results from the fear contagion tests between same-sex individuals showed that, the latency to enter upper layer and total duration spent in lower layer of stimulated males/females were significantly longer than those of control males/females; there were no significant differences in rise frequency and dive frequency between control and stimulated males; the rise frequency and dive frequency of stimulated females were significantly lower than those of control females. Results from the fear contagion tests between opposite-sex individuals showed that, there were no significant differences in all behavioral indicators between control and stimulated males; the latency to enter upper layer and total duration spent in lower layer of stimulated female were significantly longer than those of control female, while rise frequency and dive frequency showed no significant changes between control and stimulated females. The study results indicate that fear contagion in zebrafish exhibits sexual dimorphism, with female zebrafish displaying fear contagion between same/opposite-sex individuals, whereas male zebrafish exhibit fear contagion only among same-sex individuals.

Keywords: zebrafish; fear contagion; sexual dimorphism; alarm substances

(责任编辑 方兴)