

郭胜亚,朱晓宇,周佳丽,等. 斑马鱼在功能性食品研究中的应用进展[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(1): 143-147.
Guo SY, Zhu XY, Zhou JL, et al. Application of zebrafish in functional food research [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(1): 143-147.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.01.021

斑马鱼在功能性食品研究中的应用进展

郭胜亚¹,朱晓宇¹,周佳丽¹,张勇^{1,2},彭逸¹,荣佳³,张立将²,李春启^{1,2,3*}

(1. 杭州环特生物科技股份有限公司,杭州 310051; 2. 浙江省人用物品安全性评价技术研究重点实验室早期评价基地,杭州 310053; 3. 南京新环检测科技有限公司,南京 210032)

【摘要】 斑马鱼作为一种新型的模式动物,由于其饲养成本低、产卵量大、体外受精、发育周期短、透明易观察等优点,已在基础研究、药物开发、食品安全、环境保护等众多领域有了广泛应用。近年来,斑马鱼作为国际公认适于功效性评价的新型脊椎类模型动物,可为多种食品和功能食品测试功效。本文将介绍近年来斑马鱼作为模式动物在食品,特别是功能性食品在功效研究中的最新进展。

【关键词】 斑马鱼;食品;功能性食品;营养

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020) 01-0143-05

Application of zebrafish in functional food research

GUO Shengya¹, ZHU Xiaoyu¹, ZHOU Jiali¹, ZHANG Yong^{1,2}, PENG Yi¹, RONG Jia³, ZHANG Lijiang², LI Chunqi^{1,2,3*}

(1. Hunter Biotechnology, Inc., Hangzhou 310051, China.

2. Early Test Base of Zhejiang Province Key Labortary of Human Supplier Safety Evaluation, Hangzhou 310053.

3. New Hunter Testing Technology Company, Nanjing 210032)

Corresponding author: LI Chunqi. E-mail:jackli@zhunter.com

【Abstract】 Zebrafish, a novel and well recognized model organism, has been widely used in many scientific fields, such as basic research, drug discovery, and development and environmental toxicology assessments, due to its low cost, high fecundity, external fertilization, short generation time, and transparency at early stages of development. In recent years, the zebrafish has emerged as a new type of vertebrate animal model for assessing nutrition, and biological functions. This article will introduce current uses of zebrafish in food science, including applications of zebrafish in the assessment of general and functional foods.

【Keywords】 zebrafish; food; functional food; nutrition

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

目前,越来越多的生物活性成分在食物中发现,通过一些活性成分的配比形成的功能性食品已渐渐运用于生活,但食品研究领域也存在着不少问题,如如何区分活性化合物、如何推断活性化合物是否具有生物学特性并且其安全性缺乏可靠的实验依据。故研究确认食品的有效活性成分并对其安全性进行评价,是目前食品研究一个重要内容。

斑马鱼(Zebrafish, *Danio rerio*)是一种脊椎动物,与人类基因同源性高达87%,其信号传导通路与人类基本近似,生物结构和生理功能与哺乳动物高度相似^[1-2],具有饲养成本低、体积小、发育周期短、体外受精、透明易观察、单次产卵数较高、给药量小等特点。目前,斑马鱼已被美国国家卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)列为继大鼠和

【基金项目】国家“重大新药创制”科技重大专项(2017ZX09031059)。

Funded by National Science and Technology Major Project “Major New Drug Creation” (2017ZX09031059).

【作者简介】郭胜亚(1988—),女,硕士,主要从事药理学和毒理学研究。Email: gsy@zhunter.com

【通信作者】李春启,男,博士,教授,主要从事药理学和毒理学。Email: jackli@zhunter.com

小鼠之后的第三大模式生物。经济合作发展组织 (Organization for Economic Co-operation and Development, OECD) 与中国已公布多个斑马鱼化学品毒性评价标准^[3], 斑马鱼技术在欧美已经通过监管部门的药物非临床研究质量管理规范 (Good Laboratory Practice, GLP) 认证, 可用于新药临床申报。在我国已被列入科技部“重大新药创制”专项。斑马鱼被广泛应用于药物、医学、生命科学、以及环境安全检测等多个领域。近年来, 斑马鱼在食品安全性评价, 活性成分筛选及作用机制研究等方面都有着广泛应用。

1 斑马鱼及其胚胎在食品功效评价中的应用

斑马鱼是公认的生态毒理学模型。在上个世纪 70 年代, 国外已经开始应用斑马鱼进行重金属和有机物的急性毒性研究。除了毒性, 斑马鱼还被用来评估食物成分的生物活性, 包括对食品、食品提取物和从食品中分离出来的分子进行功能测试。

1.1 代谢性疾病

斑马鱼具有控制人体代谢的所有关键器官和调控机制, 是研究代谢紊乱的良好模型。斑马鱼在能量平衡^[4]、胆固醇代谢^[5]、食欲调节^[6]、胰岛素调节^[7]、脂肪细胞分化和脂质储存^[8]等关键功能与哺乳动物类似。

斑马鱼通过脂蛋白运输脂肪和胆固醇, 并在内脏、皮下和肌肉脂肪细胞库中作为三酰甘油 (triglyceride, TG) 储存^[9-10], 脂质代谢网络与哺乳动物相似, 相关蛋白如载脂蛋白、脂肪酸转运蛋白、胆固醇转运蛋白、长链酰基辅酶的表达和功能相似, 表明斑马鱼是一种适合人类脂质代谢的模型。血液中的高胆固醇水平会诱导其在血管中积累, 在血管中它们会氧化并产生炎症, 从而引发动脉粥样硬化。利用斑马鱼建立的动脉粥样硬化模型则不需杀死动物就能直接且动态观察到血管硬化的发展情况。Kim 等^[11]研究了枇杷叶、葡萄皮和巴西莓果泥对高胆固醇血症斑马鱼抗动脉粥样硬化作用。研究表明饲用巴西莓的鱼血清总胆固醇 (serum total cholesterol, TC) 和胆固醇酯转移蛋白 (cholesteryl-ester transfer protein, CETP) 活性最低, 而饲用枇杷叶的鱼血清 TC 和 TG 较饲用高胆固醇饲料 (high cholesterol diet, HCD) 的鱼降低。饲用巴西莓和枇杷叶的组表现出更少的肝脏炎症, 以及脂肪肝的减少和氧化物含量的减少。这些结果表明开发一

种新的功能性膳食剂来治疗慢性代谢性疾病, 如高脂血症是有潜力的。

此外, 由于肥胖可能是研究最多的斑马鱼代谢紊乱, 食品提取物和化合物的减脂能力已经过测试。斑马鱼胚胎和幼鱼因本身透明, 脂肪染色可直接观察, 可以用来快速观察脂肪沉积。通过这种方式, 葡萄酒渣提取物和白藜芦醇及其糖苷 (多酚类化合物, 来源于如葡萄、葡萄酒, 花生和可可) 被证明可以增加脂肪储备消耗^[12-13]。山奈酚 (高良姜山奈酚和糙米山奈酚中存在的一种萘类化合物) 具有调节脂质代谢的抗肥胖作用^[14]。饮食诱导肥胖 (dietary induced obesity, DIO) 成年斑马鱼体重指数 (body mass index, BMI) 升高, 血 TG 升高, 肝脂肪变性 (肝脂堆积)。圣草次昔是柠檬中的一种抗氧化类黄酮, 在 DIO 斑马鱼中显示出类似于高脂饮食对大鼠的降脂作用^[15]。金巴利番茄可通过调节脂肪生成相关基因的表达, 改善饮食诱导的肥胖, 尤其是血脂异常和肝脂肪变性^[16]。总的来说, DIO 斑马鱼是一个很有吸引力的模型系统, 用来评估功能性食品和化合物对肥胖发育和治疗的影响。

总之, 斑马鱼可以用来模拟代谢紊乱, 因为大多数不平衡和症状在这个模型中被精确地复制。

1.2 抗氧化性能

斑马鱼被广泛用于筛选具有抗氧化潜力的分子, 方法有多种, 比如直接测定活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生, 或者测量其他氧化损伤的生物标志物和相关过程。多糖一般是功能食品成分的重要补充来源。Gao 等^[17]和 Lee 等^[18]研究了芦荟多糖在偶氮二异丁脒盐酸盐 (2, 2'-Azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride, AAPH) 诱导和岩藻多糖在炎症诱导的斑马鱼中的抗氧化性能。芦荟多糖和岩藻多糖处理组均显著降低了 ROS 的产生。Chen 等^[19]人对几种黄酮类化合物进行了筛选, 发现虽然大多数测试分子降低了 ROS 的产生, 但其中一些分子增加了 ROS 的产生。

氧化应激诱导的细胞凋亡也被研究, 以进一步评估化合物的抗氧化能力。与未处理组相比, AAPH 诱导前用芦荟多糖处理斑马鱼、高糖诱导前用墨角藻黄素处理斑马鱼、乙醇诱导前用多酚类化合物处理斑马鱼、紫外线 (ultraviolet radiation b, UVB) 照射前用槲皮苷和黄酮处理斑马鱼均可使细胞凋亡减少。

最后, 其他氧化损伤的生物标志物已经被用来

评估功能分子的抗氧化能力,如脂质过氧化标志物,包括丙二醛(malondialdehyde,MDA)。

1.3 免疫调节

斑马鱼作为脊椎动物,有较成熟的免疫系统,具有先天性和获得性 2 种免疫系统^[20],斑马鱼免疫系统与哺乳动物相似,包括各种白细胞种群、炎症介质和信号分子^[21]。炎症的主要特征之一是局部炎症介质的释放引起毛细血管床血管扩张和血管通透性增加,从而引起热、肿胀和发红。这种炎症反应的关键功能之一是将中性粒细胞输送到受损或受感染的组织中。对组织损伤或感染的有力反应必须包括通过趋化刺激将先天免疫系统的细胞招募到受影响的部位。利用转基因斑马鱼(中性粒细胞特异性髓过氧化物酶启动子下表达绿色荧光蛋白(green fluorescent protein,GFP)观察中细粒细胞向伤口部位迁移的数量来筛选从天然产物中提取化合物的抗炎活性^[22]。抗炎的其他观察指标如炎症因子也常来筛选抗炎物质,结核杆菌素 B(tuberatolide B,TTB)是来源于马尾藻类海草,研究发现 TTB 显著抑制脂多糖(Lipopolysaccharide,LPS)诱导斑马鱼炎症生产的促炎细胞因子如白介素(interleukin-6,IL-6)和 IL-1 β (interleukin-1 β),表明 TTB 可能被用作功能性抗炎食品和营养保健品^[23]。肠道免疫也是近几年来研究比较多的一个方面,Wang 等^[24]用嗜水气单胞菌感染斑马鱼,发现两株高黏附性乳酸菌处理后具有肠道粘膜免疫保护作用。

1.4 抗血管新生的活动

肿瘤新生血管的形成是以血管生成的方式发生的,若能够抑制肿瘤组织的血管生成,切断肿瘤的营养供应,势必可以达到抑制肿瘤生长和转移的目的^[25]。斑马鱼血管系统的发育和解剖结构与哺乳动物相似。利用转基因血管荧光斑马鱼,即在内皮细胞中表达绿色荧光蛋白(GFP),在显微镜下主动脉及节间血管在清晰可见,这使得在体内观察新血管的形成成为可能,现已成为一种理想的抗血管生成高通量药物筛选的模型,已广泛应用于药物研究,也用于食品研究。

目前在该领域研究最多的主要活性成分是多酚。Lam 等^[26]通过斑马鱼胚胎实验测试了诺比列酮(一种从柑橘类水果中提取的多甲氧基类黄酮),发现这种多酚抑制了斑马鱼节间血管的形成。其他多酚类化合物如槲皮素^[27]破坏转基因斑马鱼胚

胎的节间血管、背主动脉和后主静脉的形成、白藜芦醇衍生物^[28]引起斑马鱼节间血管收缩,下调血管内皮细胞生长因子受体 2(vascular endothelial growth factor receptor 2,VEGFR2)mRNA 的表达抑制血管生成和 4-甲基伞形花序酮^[29]抑制转基因斑马鱼节间血管的形成。除此之外,一些天然提取物,比如肉桂^[30]、硫酸多糖^[31]和绿原酸^[32]均可阻断斑马鱼新生血管的形成。

总之,斑马鱼为测试食物化合物和提取物在血管生成中的有效性提供了理想的环境,不仅提供了有关血管发育的信息,而且还确定了受影响的血管或组织的类型。

1.5 神经保护

近年来,斑马鱼被广泛应用于神经科学研究中,斑马鱼胚胎在 24 hpf(受精后 24 h)原代神经元细胞开始分化,48 hpf 脑室形成,在 6 dpf(受精后 6 d)所有的神经系统形成,可在短时间呈现整个神经系统。斑马鱼神经元的形成及分化等过程与其他脊椎动物相似^[33],整个神经递质系统,包括胆碱能,多巴胺能和去甲肾上腺素能通路已经被阐明^[34-35]。斑马鱼已被用于测试食品化合物在不同神经科学领域的生物活性。

Richetti 等^[36]人研究表明槲皮素和芦丁对东莨菪碱诱导的斑马鱼抑制性回避记忆缺陷也具有潜在的保护作用,这表明这些黄酮类化合物可能是预防和治疗神经退行性疾病的潜在药物。斑马鱼胚胎时期还可以观察到一些运动行为,如逃避反射、游动等^[37]。利用红外摄影机连续采集图像可以对斑马鱼运动进行分析,在某一特定时间内采集斑马鱼运动轨迹,可以了解食品处理后斑马鱼运动的次数、持续时间和距离。Kumari 等^[38]人研究发现 α -亚麻酸能够治疗戊四唑诱导的斑马鱼癫痫发作,使斑马鱼癫痫发作时总运动距离和平均速度均有明显改善,也能显著减少 c-fos mRNA 水平。斑马鱼在学习,睡眠,药物成瘾及其他神经行为表型与人类相似^[39-40]。此外,有人观察到斑马鱼在回避食物等行为上有变化,食欲和食物摄入量的调节与哺乳动物的调节相似^[41]。因此,在该模型中研究食物或食物复合物成瘾或厌食症等复杂行为是可能的^[42]。

1.6 其他条件

姜辣素是生姜中的主要成分,Chen 等^[43]报道了 10-姜辣素对斑马鱼胚胎造血的促进作用高于其他姜辣素。为了研究益生菌保留率与肠道蠕动的

关系,开发抗便秘益生菌,Lu 等^[44]根据斑马鱼模型的荧光强度和肠道蠕动促进作用对菌株其进行筛选。结果表明,副干酪 X11 具有较好的肠蠕动促进作用。Cai 等^[45]研究了羊肚菌多糖对斑马鱼的美白作用,为羊肚菌多糖在食品和化妆品行业中潜在的美白作用提供了依据。

2 结语

随着消费水平的不断升级,消费者对于高品质的食品、功能性食品等的需求也在日益攀升,但是由于科研投入少,基础研究不够,并且商家肆意夸大产品的功能与疗效,使得消费者产生排斥心理。开发生产的功能性食品大致分为三代,第一代各类强化食品和滋补产品,未经过严格的实验证明或者科学论证,仅根据食品中的营养成分来推断功能,第二代为经过动物和人体实验证明具有某种生理调节功能的食品,目前我国市场上大多为该类功能性食品,第三代是明确食品中的功能因子以及产生的作用机理,开发出量效与构效明确的新型功能性食品,这是我国功能性食品未来研究和发展的重点^[46]。所以建立快速、有效的毒性和功效检测平台,加强食品安全和有效性验证及其机制研究的相关检测,将为人民群众的饮食安全提供更好的保障。

斑马鱼是近年来用于药理学领域研究的热门模式生物,其优势在于化合物的高通量活性筛选。在食品研究方面,斑马鱼实验结果不仅可以成为功能性食品配方确定的依据,即通过实验证明最终确定的配方优于其它配方,包括不同原料组方的比较,以及相同原料组方不同配比的比较,甚至同一配方不同制备工艺的比较,还可以研究产品功效机制,为配方的功效在机制上提供支撑。斑马鱼已被证明是食品领域研究中一个有价值的工具。但目前采用斑马鱼进行功效及机制评价的研究多集中于食品提取物,对食品全组分功效学研究筛选的报道较少,缺乏数据支撑。将斑马鱼模型与现有的体外实验与哺乳动物实验及人体试验相结合,将为深入开展食品研究提供更可靠、快速、有效的方法体系,为推动食品、特别是功能性食品研发进程具有重要意义。

参 考 文 献(References)

- [1] Clark MD, Hennig S, Herwig R, et al. An oligonucleotide fingerprint normalized and expressed sequence tag characterized zebrafish cDNA library [J]. *Genome Res*, 2001, 11(9): 1594-1602.
- [2] Postlethwait JH, Woods IG, Ngo-Hazelett P, et al. Zebrafish comparative genomics and the origins of vertebrate chromosomes [J]. *Genome Res*, 2000, 10(12): 1890-1902.
- [3] Braunbeck T, Kais B, Lammer E, et al. The fish embryo test (FET): origin, applications, and future [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2015, 22(21): 16247-16261.
- [4] Den Broeder MJ, Kopylova VA, Kamminga LM, et al. Zebrafish as a model to study the role of peroxisome proliferating-activated receptors in adipogenesis and obesity [J]. *PPAR Res*, 2015, 2015(2): 1-11.
- [5] Schlombs K, Wagner T, Scheel J. Site-1 protease is required for cartilage development in zebrafish [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(24): 14024-14029.
- [6] Yokobori E, Azuma M, Nishiguchi R, et al. Neuropeptide y stimulates food intake in the zebrafish, *Danio rerio* [J]. *J Neuroendocrinol*, 2012, 24(5): 766-773.
- [7] Elo B, Villano CM, Govorko D, et al. Larval zebrafish as a model for glucose metabolism: expression of phosphoenolpyruvate carboxykinase as a marker for exposure to anti-diabetic compounds [J]. *J Mol Endocrinol*, 2007, 38(4): 433-440.
- [8] Flynn EJ 3rd, Trent CM, Rawls JF. Ontogeny and nutritional control of adipogenesis in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *J Lipid Res*, 2009, 50(8): 1641-1652.
- [9] Shimada Y, Kuroyanagi J, Zhang B, et al. Downregulation of Max dimerization protein 3 is involved in decreased visceral adipose tissue by inhibiting adipocyte differentiation in zebrafish and mice [J]. *Int J Obes (Lond)*, 2014, 38(8): 1053-1060.
- [10] Stoletov K, Fang L, Choi SH, et al. Vascular lipid accumulation, lipoprotein oxidation, and macrophage lipid uptake in hypercholesterolemic zebrafish [J]. *Circ Res*, 2009, 104(8): 952-960.
- [11] Kim JY, Hong JH, Jung HK, et al. Grape skin and loquat leaf extracts and acai puree have potent anti-atherosclerotic and anti-diabetic activity in vitro and in vivo in hypercholesterolemic zebrafish [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 30(3): 606-614.
- [12] Caro M, Sansone A, Amezaga J, et al. Wine lees modulate lipid metabolism and induce fatty acid remodelling in zebrafish [J]. *Food Funct*, 2017, 8(4): 1652-1659.
- [13] Pardal D, Caro M, Tueros I, et al. Resveratrol and piceid metabolites and their fat-reduction effects in zebrafish larvae [J]. *Zebrafish*, 2014, 11(1): 32-40.
- [14] Lee YJ, Choi HS, Seo MJ, et al. Kaempferol suppresses lipid accumulation by inhibiting early adipogenesis in 3T3-L1 cells and zebrafish [J]. *Food Funct*, 2015, 6(8): 2824-2833.
- [15] Hiramitsu M, Shimada Y, Kuroyanagi J, et al. Eriocitrin ameliorates diet-induced hepatic steatosis with activation of mitochondrial biogenesis [J]. *Sci Rep*, 2014, 4(1): 3708-3719.
- [16] Tainaka, T, Shimada, Y, Kuroyanagi J, et al. Transcriptome analysis of anti-fatty liver action by Campari tomato using a zebrafish diet-induced obesity model [J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2011, 8(1): 88-99.
- [17] Gao Y, Kuok KI, Jin Y, et al. Biomedical applications of *Aloe*

- vera [J]. Crit Rev Food Sci, 2018, 59(1): S244–256.
- [18] Lee SH, Ko CI, Jee Y, et al. Anti-inflammatory effect of fucoidan extracted from *Ecklonia cava*, in zebrafish model [J]. Carbohydr Polym, 2013, 92(1): 84–89.
- [19] Chen YH, Yang ZS, Wen CC, et al. Evaluation of the structure-activity relationship of flavonoids as antioxidants and toxicants of zebrafish larvae [J]. Food Chem, 2012, 134(2): 717–724.
- [20] Trede NS, Langenau DM, Traver D, et al. The use of zebrafish to understand immunity [J]. Immunity, 2004, 20(4): 367–379.
- [21] Crim MJ, Riley LK. Viral diseases in zebrafish: What is known and unknown [J]. ILAR J, 2012, 53(2): 135–143.
- [22] Wang X, Robertson AL, Li J, et al. Inhibitors of neutrophil recruitment identified using transgenic zebrafish to screen a natural product library [J]. Dis Mod Mech, 2014, 7(1): 163–169.
- [23] Kim EA, Kim SY, Kim J, et al. Tuberatolide B isolated from *Sargassum macrocarpum* inhibited LPS-stimulated inflammatory response via MAPKs and NF- κ B signaling pathway in RAW264.7 cells and zebrafish model [J]. J Funct Foods, 2019, 52: 109–115.
- [24] Wang Y, Ren Z, Fu L, et al. Two highly adhesive lactic acid bacteria strains are protective in zebrafish infected with *Aeromonas hydrophila* by evocation of gut mucosal immunity [J]. J Appl Microbiol, 2016, 120(2): 441–451.
- [25] Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases [J]. Nature, 2000, 407(6801): 249–57.
- [26] Lam KH, Alex D, Lam IK, et al. Nobiletin, a polymethoxylated flavonoid from citrus, shows anti-angiogenic activity in a zebrafish in vivo model and HUVEC in vitro model [J]. J Cell Biochem, 2011, 112(11): 3313–3321.
- [27] Zhao D, Qin C, Fan X, et al. Inhibitory effects of quercetin on angiogenesis in larval zebrafish and human umbilical vein endothelial cells [J]. Eur J Pharmacol, 2014, 723:360–367.
- [28] Alex D, Leong EC, Zhang ZJ, et al. Resveratrol derivative, trans-3, 5, 4'-trimethoxystilbene, exerts antiangiogenic and vascular-disrupting effects in zebrafish through the downregulation of VEGFR2 and cell-cycle modulation [J]. J Cell Biochem, 2010, 109(2):339–346.
- [29] García-Vilas JA, Quesada AR, Medina MÁ. 4-Methylumbelliferone inhibits angiogenesis in vitro and in vivo [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(17): 4063–4071.
- [30] Bansode RR, Leung TC, Randolph P, et al. Cinnamon extract inhibits angiogenesis in zebrafish and human endothelial cells by suppressing VEGFR1, VEGFR2, and PKC-mediated MAP kinase [J]. Food Sci Nutr, 2013, 1(1):74–82.
- [31] Liu Y, Liu C, Tan H, et al. Sulfation of a polysaccharide obtained from *Phellinus ribis* and potential biological activities of the sulfated derivatives [J]. Carbohydr Polym, 2009, 77(2):370–375.
- [32] Lin S, Hu J, Zhou X, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis by chlorogenic acid, via targeting the vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated signaling pathway [J]. J Funct Foods, 2017, 32: 285–295.
- [33] Tropepe V, Sive HL. Can zebrafish be used as a model to study the neurodevelopmental causes of autism? [J]. Genes Brain Behav, 2010, 2(5): 268–281.
- [34] Rink E, Wullimann MF. Connections of the ventral telencephalon (subpallium) in the zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Brain Res, 2004, 1011(2):206–220.
- [35] Wullimann MF, Mueller T. Teleostean and mammalian forebrains contrasted: Evidence from genes to behavior [J]. J Comp Neurol, 2004, 475(2): 143–162.
- [36] Richetti SK, Blank M, Capiotti KM, et al. Quercetin and rutin prevent scopolamine-induced memory impairment in zebrafish [J]. Behav Brain Res, 2011, 217(1): 10–15.
- [37] Saint-Amant L, Drapeau P. Motoneuron activity patterns related to the earliest behavior of the zebrafish embryo [J]. J Neurosci, 2000, 20(11): 3964–3972.
- [38] Kumari S, Mazumder AG, Bhardwaj A, et al. Early α -linolenic acid exposure to embryo reduces pentylenetetrazol-induced seizures in zebrafish larva [J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2019, 143: 15–20.
- [39] Guo S. Linking genes to brain, behavior and neurological diseases: what can we learn from zebrafish? [J]. Genes Brain Behav, 2010, 3(2): 63–74.
- [40] Piccinetti CC, Migliarini B, Olivotto I, et al. Melatonin and peripheral circuitries: insights on appetite and metabolism in *Danio rerio* [J]. Zebrafish, 2013, 10(3):275–282.
- [41] Brigitte B, Ernest S, Rosa F. Egr-1 induction provides a genetic response to food aversion in zebrafish [J]. Front Behav Neurosci, 2013, 7: 51–63
- [42] Collier AD, Khan KM, Caramillo EM, et al. Zebrafish and conditioned place preference: A translational model of drug reward [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2014, 55:16–25.
- [43] Chen H, Soroka DN, Haider J, et al. [10]-Gingerdiols as the major metabolites of [10]-gingerol in zebrafish embryos and in humans and their hematopoietic effects in zebrafish embryos [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(22): 5353–5360.
- [44] Lu Y, Zhang J, Yi H, et al. Screening of intestinal peristalsis-promoting probiotics based on a zebrafish model [J]. Food Funct, 2019, 10(4): 2075–2082.
- [45] Cai ZN, Li W, Mehmood S, et al. Effect of polysaccharide FMP-1 from *Morchella esculenta* on melanogenesis in B16F10 cells and zebrafish [J]. Food Funct, 2018, 9(9): 5007–5015.
- [46] 黄凯信, 陈树喜, 陈秀丽, 等. 我国功能性食品发展状况分析 [J]. 农产品加工, 2015, 15(7): 53–59.
- Huang KX, Chen SX, Chen XL, et al. Development of functional food in China [J]. Farm Prod Proc, 2015, 15(7): 53–59.