DOI: 10.12131/20230231
文章编号：2095－0780－（2024）03－0173－08

• 综述 •

基于多组学联用的活鱼暂养及运输应激研究进展

岑剑伟[1,2]，陈　琛[1,3]，姚世鹏[4]，黄　卉[1]，郝淑贤[1]，魏　涯[1]，杨少玲[1]，何静怡[1,3]，王　田[1,5]

1. 中国水产科学研究院南海水产研究所/农业农村部水产品加工重点实验室，广东 广州 510300
2. 中国水产科学研究院南海水产研究所热带水产研究开发中心，海南 三亚 572018
3. 上海海洋大学 食品学院，上海 201306
4. 镇巴县农业综合执法大队，陕西 汉中 723600
5. 大连海洋大学 水产与生命学院，辽宁 大连 116023

摘要：鱼类长途保活运输技术是我国“南鱼北运”实施的主要方法。鱼类在运输过程中受到如低温、盐度变化、碱性胁迫等环境因素影响，结合多组学联合的研究方法对鱼类运输过程中产生的应激进行多维度的分析。识别差异表达基因、蛋白质及代谢物，进而解析调控网络及生物标志物对应激反应的影响，有助于理解鱼类运输过程中的健康状况，优化暂养及运输条件，提高活鱼品质与存活率。综述了近年来鱼类在运输中产生各类应激的组学研究进展，为精准调控鱼类保活运输中的各项环境指标及深入研究活鱼运输应激的相关机理提供参考。

关键词：鱼类保活运输；转录组；蛋白质组；代谢组；多组学联用

中图分类号：S 981.14　　**文献标志码：**A　　**开放科学（资源服务）标识码（OSID）：**

Advances in multi-omics study of environmental stress in fish during temporary breading and transportation

CEN Jianwei[1,2], CHEN Chen[1,3], YAO Shipeng[4], HUANG Hui[1], HAO Shuxian[1], WEI Ya[1], YANG Shaoling[1], HE Jingyi[1,3], WANG Tian[1,5]

1. *South China Sea Fisheries Research Institute*, *Chinese Academy of Fishery Sciences/Key Laboratory of Aquatic Product Processing*, *Ministry of Agriculture and Rural Affairs*, *Guangzhou* 510300, *China*
2. *Tropical Aquaculture Research and Development Center*, *South China Sea Fisheries Research Institute*, *Chinese Academy of Fishery Sciences*, *Sanya* 572018, *China*
3. *College of Food Science & Technology*, *Shanghai Ocean University*, *Shanghai* 201306, *China*
4. *Zhenba County Agricultural Comprehensive Law Enforcement Brigade*, *Hanzhong* 723600, *China*
5. *College of Fisheries and Life Science*, *Dalian Ocean University*, *Dalian* 116023, *China*

Abstract: The long-distance live fish transportation technology is the main method used in China's 'South-to-North Fish Transportation' program. During transportation process, fish are subjected to various environmental factors such as low temperature, salinity fluctuations, alkaline stress, etc. Using multi-omics integrated research methods, we conducted a multidimensional analysis of the stress response in fish transportation, including identification of differentially expressed genes, proteins and metabolites, as well as an analysis of regulatory networks and biomarkers associated with the stress response. These stu-

收稿日期：2023-11-25；**修回日期：**2024-01-31

基金项目：国家特色淡水鱼产业技术体系（CARS-46）；广州市科技计划项目重点研发计划（2024B03J1346）；海南省自然科学基金面上项目（321MS099）；广东省现代农业产业技术体系海水鱼产业创新项目（2019KJ143）；中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助（2023TD78, 2023TD740）

作者简介：岑剑伟（1976—），男，研究员，博士，研究方向为水产品加工与质量安全。E-mail: genvex@163.com

dies help to understand the health status of fish during transportation, optimization of temporary rearing and transportation conditions, as well as improvement of the quality and survival rate of live fish. The paper provides an overview of the recent advancements in omics research on various stress responses in fish during transportation, and provides a reference for the precise regulation of environmental indicators and in-depth investigation of the underlying mechanisms of stress response in live fish transportation.

Keywords: Live fish transportation; Transcriptome; Proteome; Metabolome; Multi-omics

随着国民生活水平的提高，活鱼运输的市场需求日益增大。在保活运输过程中，由于鱼类受到暂养密度大、路面波动及其他胁迫的影响，会出现侧翻、跳跃、撞击及呼吸异常等行为[1]，导致其机体功能异常、生理代谢和免疫系统功能下降、鱼肉品质降低，限制了活鱼销售的市场发展规模。通过对多组学数据的整合，绘制“基因—蛋白—代谢物—表型”的关系网络，从而筛选出鱼体响应应激的生物标志物，解析不同胁迫因素引起应激反应的相关机制，为深入分析保活运输过程中鱼类的健康状况以及探究高效的运输方案提供参考。

1 关键词共现研究热点分析

为确保所选的“鱼类运输应激”相关文献具有较高的学术质量和研究价值，通过选择中国知网核心文集和 Web of Science 核心合集为数据库，中文关键词“鱼类、运输应激、转录组学、蛋白质组学、代谢组学”等，英文检索关键词则为“stressed fish, live transportation, multi-omics, gene expression, transcriptomic, proteomic, metabolomics”等同义词汇进行组合检索，在检索出的文献中结合相关度排序并筛选[2]。在 2010—2023 年间，共筛选出用于分析研究的 500 篇中文文献和 4 692 篇英文文献。基于 VOSviewer version 1.6.19 文献计量软件 (www.vosviewer.com) 开展量化研究 (图 1)，从而系统分析“鱼类运输应激”的研究热点与现状，便于更全面地认知和把握基于多组学联合视角下对于鱼类运输应激的研究方法与逻辑[3]。

统计发现，发表基于组学的鱼类运输引起各类应激研究的外文文献中，前 20 个国家发表论文数量占总发表论文量的 61.2%，中国 (1 029 篇)、美国 (386 篇) 和韩国 (176 篇) 占据前三，说明中国是鱼类运输应激的组学研究领域的主要研究力量。其中，发表相关研究论文的 280 个机构中，中国水产科学研究院、中国科学院和上海海洋大学居前三位，说明中国在基于组学的鱼类运输应激研究领域中，拥有强大的研究团队以及出色的研究能力。经统计期刊发现 (表 1)，共有 83 种期刊录用相关研究论文，其中 Fish & Shellfish Immunology 录用论文数量最多 (232 篇)，并且相关论文被引量远超其他期刊。经高引论文分析发现，研究主要集中在氧化应激、免疫反应和细胞凋亡影响 3 个方向。

综合研究文献发现中外对于鱼类应激的组学方面研究多从转录组测序、构建 cDNA 文库与分析差异表达基因 (Differentially expressed genes, DEGs) 进行探索，以初步获

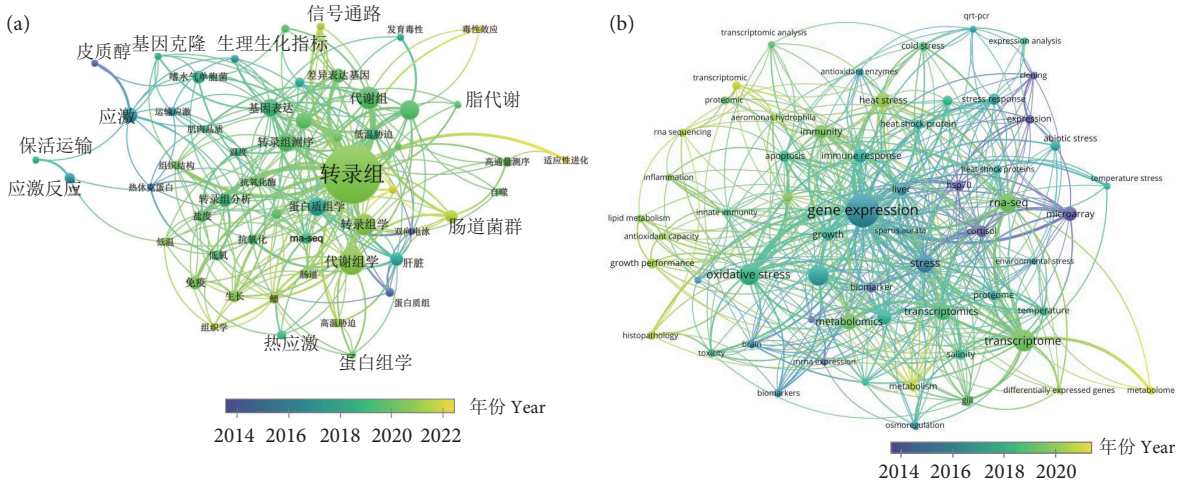

图1 中文学刊 (a) 和英文学刊 (b) 关键词网络类聚图

注：图中圆的大小代表关键词出现的频率，颜色代表关键词高频出现的年份。

Fig. 1 Keywords co-occurrence network in Chinese journal (a) and English journal (b)

Note: The size of the circles is proportional to occurrence frequency of keywords, and the color represents the corresponding year.

表1　发表基于组学的鱼类运输应激研究文献的前 5 期刊发文量

Table 1　Top 5 sources in publications on omics study of stressed fish during transportation

期刊 Journal	论文数量 Publication/篇	论文被引量 Citation/次
Fish & Shellfish Immunology	232	7 102
Aquaculture	100	2 298
Aquatic Toxicology	82	2 441
Fish Physiology and Biochemistry	68	1 025
BMC Genomics	58	2 446

得由于各类应激因素产生的转录产物；并且可以看出，探究思路基本上遵循着“胁迫源—转录信息—蛋白质—代谢物—表型”循序渐进的思路进行。通过鉴定出差异表达的转录物、蛋白质及代谢物，映射到相关的代谢途径中，经联合分析进而发现表达差异显著富集的代谢通路。本文探究了运输过程中的鱼类应激反应的诱发因素、鱼类机体应对应激的适应机制和掌握鱼体内的代谢产物及通路的改变，以期为改善活鱼运输技术提供理论参考。

2　基于单一组学的鱼类应激研究

随着科技的发展，转录组学、蛋白质组学、代谢组学等单一组学可为生命科学研究提供更多、更丰富的数据和信息。这些研究的方法和结果深化了对鱼类保活运输过程中产生应激的生理机制和产生病理病害机制的理解 (表 2)，为鱼类保活运输的应激安抚方案提供了参考，对提高鱼类的运输存活率与品质具有较好的参考价值。

表2　鱼类应激反应的单一组学研究

Table 2　Omics study on stress response of fish

研究方法 Technology	鱼种 Fish species	胁迫 Stress	组织 Tissue	条件/样品 Condition/Sample	参考文献 References
转录组学 Transcriptome	鲤 *Cyprinus carpio*	低温胁迫	肝脏、肾脏、脑、心脏、鳃、骨骼肌和肠黏膜	对照组 (30 ℃) 和冷训组 (23、17 和 10 ℃)	[4]
	刀鲚 *Coilia nasus*	盐度胁迫	鳃	对照组 (10‰)、淡水组 (0‰) 和海水组 (30‰)	[5]
	军曹鱼 *Rachycentron canadum*	盐度胁迫	鳃、肾和肠	低盐组 (10‰)、对照组 (30‰)、高盐组 (35‰)	[6]
	青鳉 *Oryzias latipes*	碱性胁迫	鳃	淡水 (1.5 mmol·L^{-1}) 和碱水 (30.4 mmol·L^{-1})	[7]
	斑点鲈 *Lateolabrax maculatus*	碱性胁迫	鳃	碱性 (18 mmol·L^{-1}) 暴露0 h (对照组)、12、24 和 72 h	[8]
	大黄鱼 *Pseudosciaena crocea*	缺氧胁迫	脾脏和头肾	缺氧 [(1.6±0.2) mg·L^{-1}] 0 h (对照组)、6、24 和 48 h	[9]
	鳙 *Hypophthalmichthys nobilis*	缺氧胁迫	肝脏、鳃和心脏	缺氧试验前 (对照组) 和缺氧试验后 (1、2 和 4 h)	[10]
	金头鲷 *Sparus aurata*	密度胁迫	肝脏	对照组和封闭组 (6、24、72 和 120 h)	[11]
	虹鳟 *Oncorhynchus mykiss*	密度胁迫	肝脏	对照组和封闭组 (1、2、4、6、24、48、96、168、336、504、648 h)	[12]
蛋白质组学 Proteome	大菱鲆 *Scophthalmus maximus*	低温胁迫	表皮组织	常温组和冷训组 (6、3、0、−3 和−6 ℃)	[13]
	大黄鱼 *Pseudosciaena crocea*	低温胁迫	肝脏	常温组和试验组 (8.5 ℃) 72 h	[14]
	海洋青鳉 *Oryzias melastigma*	缺氧胁迫	脑	短期常氧 [(5.8 ± 0.2) mg·L^{-1}] 和短期缺氧 [(1.5 ± 0.2) mg·L^{-1}] (3个月)、多代常氧和多代缺氧 (三代)	[15]
	金鱼 *Carassius auratus*	缺氧胁迫	心脏	常氧组和缺氧组	[16]
代谢组学 Metabolome	铁饼鱼 *Symphysodon equifasciatus*	低温胁迫	鳃	对照组 (28 ℃) 和冷训组 (20 ℃) 30 d	[17]
	黄姑鱼 *Nibea albiflora*	低温胁迫	肝脏	对照组 (16 ℃) 和冷训组 (8 ℃) 14 d	[18]
	半滑舌鳎 *Cynoglossus semilaevis*	盐度胁迫	鳃	低渗组 (0‰)、等渗组 (30‰) 和高渗组 (50‰)	[19]
	鲫 *Carassius carassius*	碱性胁迫	静脉血	清洁水 (对照组) 和碳酸盐碱水 (20、40、和 60 mmol·L^{-1})	[20]
	斑马鱼 *Danio rerio*	机械胁迫	整个鱼体	对照组 1 (明/暗箱)、对照组 2 (旷箱)、网捕组 1 (明/暗箱)、网捕组 2 (旷箱)	[21]

2.1 鱼类保活运输应激的诱因

2.1.1 低温胁迫

研究鱼类耐寒机理最重要的方法为低温胁迫[22]。在生存温度范围内，适宜的低温暂养不仅能保持较好的水质，同时也能降低鱼体代谢水平，减缓呼吸并减少耗氧量[23]，维持机体内环境稳态，减少氧化应激反应造成的损伤[24]。因此在活鱼运输过程中常采用降温的方式使鱼类进入休眠状态以提高运输效率，在此过程中，应尽量避免温度骤降，或降低胁迫的强度和时间，从而将其对鱼体的影响降至最低。

2.1.2 盐度胁迫

盐度变化会引起鱼类渗透胁迫。徐钢春等[25]发现，盐度升高至 10‰ 可显著提高长江刀鲚 (*Coilia nasus*) 血浆的渗透压，并降低其基础代谢水平。此外，降低基础代谢水平也有助于减少能量消耗以应对应激状态。为了减少运输过程中鱼类产生强烈应激的可能性，可适当调整盐度以缓解渗透胁迫引起的应激，提高其适应环境能力，进而显著提高存活率。

2.1.3 碱性胁迫

在密闭的运输容器或系统中，鱼类的新陈代谢增加，二氧化碳 (CO_2) 积累，致使水体中的 CO_2 含量增加，进而导致水体的碳酸盐碱度升高，使鱼类的呼吸紊乱并干扰鱼体内部电解质平衡。在鱼类保活运输过程中，需要注意维持适宜的水质条件，提供足够的氧气 (O_2) 和控制水温，以减少碳酸盐碱度胁迫的发生。目前鱼类保活运输在产业上的实践方案是在暂养阶段让鱼体内废物充分排泄干净，保证在禁食的运输期间水质能保持较为干净的状态。

2.1.4 外力胁迫

在实际的鱼类保活运输过程中，会通过提高鱼水比以降低生产成本，而这会造成密度胁迫，使运输过程中鱼体生存环境变差，含氧量降低，影响鱼体激素水平[26]。密度胁迫会导致鱼群中的个体之间竞争加剧，造成应激反应，进而影响鱼体内分泌系统的正常功能[27]。还会导致 O_2 供应不足和免疫系统功能下降，从而增加了鱼类的激素水平波动，使其易受感染和疾病侵袭[28-29]。因此，研究鱼类在高密度环境下的适应性反应，探究保活运输中合适的鱼水体积比，有助于掌握运输过程中适当的暂养密度，提高运输效益。

另外，运输过程中鱼类由于颠簸受到撞击会对其机体造成机械损伤[30]。有大量研究表明，环境噪声也会对鱼类的生理生化及代谢等指标造成负面影响[31-32]。目前对于鱼类有水运输的研究通常只采用规律性晃动进行模拟运输，与实际的运输过程仍存在较大差异，而针对优化模拟运输试验的研究甚少。因此，综合分析各种路况条件下鱼体的各类变化，可为优化运输条件及保证运输后鱼类品质和食用安全提供可靠的理论支持。

2.2 鱼类应激的转录组反应

转录组广义上指某一生理条件下，细胞内所有转录产物的集合，包括信使 RNA、核糖体 RNA、转运 RNA 以及非编码 RNA[33]。利用 RNA-seq 技术进行转录组研究，可以同时分析转录本的结构和表达水平，发现未知转录本和稀有转录本[34]。此外，RNA-seq 技术还能够精确地识别可变剪切位点以及编码序列单核苷酸多态性 (cSNP)，从而进一步探究基因的调控机制和功能[35]。

鱼类在长期演化中逐渐形成了应对低温胁迫的生理、生化和遗传机制，可以通过解析对低温应激反应和抗寒起关键作用的遗传因子，确定最佳的暂养温度并改进保活运输过程中的温度控制。Gracey 等[4]对鲤 (*Cyprinus carpio*) 的 7 种组织 (肝脏、大脑、肾脏、心脏、骨骼肌、鳃和肠黏膜) 的转录本的表达进行了时间进程分析，筛选出参与低温适应的基因，并将其与始终保持在控制温度 30 ℃ 下的鱼类的表达谱进行比较，发现所有组织都有共同的转录反应，但不同组织的能量和代谢策略存在很大差异，比如大脑调节糖酵解活动、肝脏显示向脂质代谢过渡等，这些不同组织转录反应的复杂适应表现，表明组织具有很强的特异性。

在缺氧胁迫下，研究发现鳙 (*Hypophthalmichthys nobilis*) 缺氧前期上调的基因主要与细胞信号传导有关，如 DNA 损伤诱导转录本 4 (ddit 4)；在中期 DEGs 主要富集在调节和适应相关的基因中；在后期上调的基因主要与细胞凋亡相关[10]。也有研究表明，在大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 脾脏中，许多模式识别受体 (Pattern recognition receptors, PRRs) 介导的免疫过程可能受到抑制，可能是由于应对低氧胁迫的节能策略，但这可能导致鱼类更容易受到病原体感染[9]。

对暂养状态下金头鲷 (*Sparus aurata* L.) 肝脏转录组的研究表明，在限制性暴露下，确定了代谢的快速调整、多种组织修复和重塑过程、增加细胞内运输和清除活性氧 (Reative oxygen species, ROS) 来重建细胞平衡的主要时间基因表达谱，同时对免疫系统进行双向调节[11]。Cairns 等[12]在虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 的肝脏中进行的类似研究也观察到了各种功能的显著变化，包括炎症、免疫反应、糖异生和糖原分解、能量代谢和蛋白质降解。

2.3 鱼类应激的蛋白组反应

相较其他组学，蛋白质组学可以直观地反映机体活动的变化。通过寻找差异蛋白，找出与应激暴露相关的蛋白

质，进一步研究这些异常蛋白在应激发生、发展过程中的作用，从而有助于从分子水平揭示由于应激暴露而导致生理变化的机制[36]。

在低温胁迫下，大黄鱼肝脏中 NSF、CK-18 和 2-Cys Prxs 蛋白水平明显下调，说明低温加速了大黄鱼的细胞凋亡，且受损细胞的蛋白修复功能出现障碍；而 MHC 蛋白水平明显上调，表明鱼体通过调节能量供应以满足机体在低温环境下的需要 [14]。能量消耗在受低温胁迫的大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 表皮组织中也有体现，鱼体的肌球蛋白轻链表达水平骤然上调，从而满足 ATP 酶活性的需要[13]。

通过分析鱼类在应对低氧胁迫时蛋白质水平的分子反应机制，有助于进一步解析应答低氧胁迫时涉及的能量产生、代谢、细胞结构、抗氧化、免疫、信号转导等过程[37]。Imbrogno 等[16] 在缺氧胁迫下的金鱼 (*Carassius auratus*) 心脏中发现参与糖酵解和糖异生的 5 种酶发生异常，影响了鱼脑中花生四烯酸的代谢，足够水平的花生四烯酸是鱼脑正常结构和功能所需的[38]。另外还有一项基于质谱的经典蛋白质组学研究[39]，以确认金鱼心脏中可能存在与在常氧和低氧条件下维持心脏功能有关的蛋白质，研究表明金鱼的心脏可能会根据 O_2 的可用性来微调糖酵解与葡萄糖生成的通量，从而有助于耐缺氧，在 O_2 减少的条件下，醛缩酶同工酶的调节可使金鱼心脏循环利用无氧糖酵解的第一产物丙酮酸，这可能会最大限度地减少有害废物的积累。

2.4　鱼类应激的代谢组反应

代谢组是指一个细胞、组织或器官在某一特定生理时期内所有的低分子量代谢产物[40]。代谢组作为基因转录的最终下游产物，放大了转录组和蛋白质组的变化，并且是现今用于整合定量分析和数据验证的后基因组技术的基石之一[41]，已经广泛用于包括鱼类应激研究在内的不同水产养殖领域[42]。

低温可以激活铁饼鱼 (*Symphysodon aequifasciatus*) 保护性的抗氧化防御反应，并改变其代谢途径[17]。在抗氧化系统中，通过增加超氧化物歧化酶及谷胱甘肽过氧化物酶活性、提升还原型谷胱甘肽 (GSH) 水平，以弥补过氧化氢酶活性的耗竭。在低温下，作为保护性反应，生物体可以通过生物合成或增加中性粒细胞 (GR) 的再生来提升 GSH 的水平[43]。

盐度胁迫下的综合调节包括渗透调节物质、能量物质、氨基酸及中间代谢产物的综合调节[19]。碱性胁迫下生长发育、代谢调节和生理功能受影响最显著[20]。在受到网捕胁迫即限制性暴露下，体内丙氨增加，有助于克服焦虑，促进肌肉运动；腺苷增加，从而支持肌酸生产和 ATP 合成[21]。

为了减缓活鱼流通环节引起的应激反应，通常采用麻醉技术抑制其神经系统并减弱对环境变化的敏感性。陈山乔等[44] 基于非靶向代谢组学结合机器学习，对 MS-222 鲫鱼麻醉运输进行研究，从通路分析发现酪氨酸和苯丙氨酸的代谢受到了影响，而在缺氧和高血碳酸症的共同作用下，能够诱导酪氨酸羟化酶的表达。此外，酪氨酸水平降低与苯丙氨酸转化为酪氨酸的功能受到抑制，表示可能存在一定的肾功能损伤。

3　基于多组学联合的鱼类应激研究

来自不同组学平台生物学数据的融合，称为系统生物学[45]。基因组学和代谢组学是验证生物标志物的强大技术，因为蛋白质组是基因的动态反映，代谢组则是放大基因组学和蛋白质组学变化的最终下游产物[46]。与单一组学的限制性研究相比，多组学提供了了解研究生物体完整信息流的机会，采用假设生成试验，极大地增强了对生理过程的认知和理解[47]。组合来自尽可能多的不同层级的生物信息被认为是当今获得生理途径准确图像的最理想方法，此类整合的多组学方法已经应用于养殖动物和鱼类研究[48-49]。因此，整合多组学数据获得与应激反应相关的生物途径，以发现鱼类应激过程中的候选生物标志物，能够帮助人们系统深入了解鱼类的应激响应机制。

3.1　转录组学与蛋白质组学联合分析

转录组代表了基因表达的中间阶段，而蛋白质组代表了基因表达翻译和蛋白质降解的终点。转录组学和蛋白质组学的整合通过挖掘受转录后调控的关键蛋白或关键基因，寻找某些关键的代谢通路或者调控因子，可以发现新的基因、剪接变异体、单个氨基酸多态性，并预测翻译起始位点。这种整合分析可以提供互补信息，从而得出更有价值的结论。如今，整合转录组学和蛋白质组学分析已成为生物学领域研究人员的热门话题和趋势，并已成功应用于人类、大鼠和鱼类等各个分析领域。整合转录组学和蛋白质组学分析提供了对鱼类免疫系统的更好理解，包括基因表达以及后续复杂的生物学过程，这些生物学过程是抵抗应激的免疫反应基础。

Root 等[50] 在盐度增加的环境下，发现罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*) 鳃中的许多 mRNA 丰度变化被反映在了蛋白质水平上，也发现一些细胞过程与 mRNA 和蛋白质丰度高度相关，例如线粒体能量代谢、葡萄糖代谢和一些丝氨酸蛋白酶等。此外，还检测到 mRNA 和蛋白质调节之间的许多高度非线性关系，特别是对于一些钙依赖性蛋白酶以及其他参与调节细胞黏附和连接组织的蛋白质。盐度

在 mRNA 和蛋白质调节水平上的这些非线性影响表明，鳃上皮重塑的环境控制受到多层次调节的复杂机制影响。因此，在这种情况下，蛋白质组学对于补充转录组数据集是必要的，可以正确解释在更高组织水平上控制动态表型的分子机制。

3.2 转录组学与代谢组学联合分析

鱼类应对各种胁迫的应答涉及多基因、多信号途径和多代谢过程，转录组分析对于挖掘基因组功能、差异表达是必需的，代谢组学通过整体研究基因组下游的代谢产物，因此，运用转录组学和代谢组学联合研究的办法，可以同时实现从“因”和“果”两个层面来探究，并相互进行验证；对差异基因和代谢物进行共表达分析，筛选出关键基因、代谢物及代谢通路，可以深度解析响应胁迫机制。

通过暗纹东方鲀 (*Takifugu obscurus*) 在急性低氧胁迫下鳃组织的转录组及代谢组分析，将 DEGs 显著富集的 KEGG 通路上的差异基因集中在应激反应、免疫功能、血管生成和细胞凋亡等过程中；差异代谢物主要富集的通路与细胞中脂质代谢、氨基酸代谢、氧化应激、细胞凋亡有关[51]。军曹鱼 (*Rachycentron canadum*) 在缺氧应激下有包括谷胱甘肽代谢、脂肪消化和分泌、胆汁分泌、甘油脂代谢、三羧酸循环、糖酵解/脂肪生成等 62 条代谢途径显著富集，显著差异的代谢产物与氨基酸和脂质代谢有关，研究表明，持续低氧胁迫可引起军曹鱼肠道一定程度的氧化损伤，从而干扰其消化吸收和生理代谢过程[52]。

Wang 等[53] 用 MS-222 和 2-PE 对鲤进行麻醉，通过转录组学和代谢组学分析揭示了相关的麻醉机制和毒性效应，与 MS-222 处理相关的 DEGs 富集在免疫通路、脂质代谢、氨基酸代谢等信号通路中；与 2-PE 处理相关的 DEGs 富集在免疫和氨基酸代谢中。结果表明在该试验中使用的 MS-222 和 2-PE 浓度下，花生四烯酸的代谢受到 MS-222 的抑制，2-PE 影响了花生四烯酸的上下游代谢途径，从而影响其代谢。因此，由于转录组与代谢组联合分析可从大量转录本信息中快速鉴定代谢相关功能基因，才能进一步构建核心调控网络，找出关键候选基因[54]。

3.3 蛋白质组学与代谢组学联合分析

蛋白质作为基因发挥功能的载体，是在“后基因组时代”研究基因功能的主要落脚点，而代谢物处于蛋白调控网路的下游，两个组学具有直接调控关系，且代谢组提供的是生物学的终端信息，代谢组信息与生物表型变化最为接近。为了评估差异表达蛋白和差异代谢物之间的相互关系，并量化它们之间的共变性强弱，通过先计算差异蛋白表达量与差异代谢物丰度的 Pearson 关系数，并着重从 KEGG 通路分析着手，将相同表达趋势的蛋白和代谢物进行整合并可视化[55]，这对于获得两种组学研究视野下共有的代谢/信号通路，进一步明确鱼类响应应激相关的调控机制具有重要意义。

康玉军[56] 通过虹鳟急性热应激条件下肝脏组织的非靶向代谢组学研究，发现不饱和脂肪酸合成、α-亚麻酸代谢和脂肪酸降解及初级胆汁酸生物合成等通路在两类组学研究中均被显著富集。持续的热应激会抑制与脂肪酸氧化利用相关酶的表达，导致虹鳟肝脏中脂肪酸的积累，从而影响脂质代谢；并且推断慢性热应激可能使虹鳟初级胆汁酸生物合成受到抑制，使得胆固醇在肝脏中积累。蛋白质和代谢物层面的研究可以相互验证，并相互补充。在遗传信息从上游向下游传递的过程中，这种综合研究方法可以降低背景干扰，更容易筛选出鱼类应对各类胁迫的关键蛋白质、代谢物或通路。通过这种方式，可以更好地确定鱼类在应激条件下的适应机制，并找到潜在的调控靶点。

4 小结与展望

随着组学技术和生物信息学的发展，对于鱼类各类应激反应的多组学研究逐渐深入。基于联合多组学的分析手段将主导该领域。鱼类的保活运输过程当中，各项影响因素相互关联、互相影响，在实际运输过程中，已知应激因素的适用性有限。此外，现有的基因组只能解释鱼类应激反应中的部分遗传变异，某些稀有蛋白质很难识别，对它们的研究既耗时又昂贵。代谢组学相对适合研究与时间相关的影响[56]。通过多组学数据的整合，并逐渐阐明免疫系统、代谢路径、表达蛋白与鱼类受到胁迫后产生应激反应之间的复杂关系。这一研究策略也带来了新的保活运输方法，比如生物絮团技术[57]、充氧式单独包装等。

虽然联合多组学分析扩展了对鱼类各类应激反应的研究，但由于多因素的综合影响和个体数据集之间的高变异性，可能导致不稳定的趋势出现。因此，获得的许多多组学数据难以解释并且难以使用它们来鉴定生物学相关分子。全基因组关联研究 (Genome-wide association study) 具有高通量和较低的基因组检测成本，已广泛用于大规模队列[58]。综合多组学数据分析仍处于起步阶段，必须开发通用的数据集成和分析方法，以充分有效地利用现有的多组学数据。随着国际数据的公开，分析平台和合作团体的增加，多组学研究的可用资源将变得更加丰富，研究成本将大幅下降。

高通量技术的创新和包括基因组、转录组、蛋白质组和代谢组等在内的组学数据揭示了鱼类在受到各类胁迫时的应激反应机制，并帮助完善鱼类养殖与运输过程中的周围环境条件控制。因此，通过开展多中心、大规模、规范

化的模拟运输，获得更多的应激特征信息以及代谢物网络图，可以精确地绘制调节胁迫中应激反应的关键功能基因和信号传导途径的表达模式，获得关于鱼类运输应激的易感基因、机制途径和阶段性生物标志物的全面信息。以预测和预防这些应激反应，这些信息将有助于精确地调整运输条件，降低鱼类保活运输过程中的损耗率，并提高保活运输过程中的鱼类品质。

参考文献:

[1] 谢京君, 李前勇, 张德志, 等. 运输应激对动物机体影响的研究现状[J]. 四川畜牧兽医, 2014, 41(1): 35-37.

[2] 周成. “双碳”政策的知识图谱、研究热点与理论框架[J]. 北京理工大学学报 (社会科学版), 2023, 25(4): 94-112.

[3] JAN N, WALTMAN L. Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping[J]. Scientometrics, 2010, 84(2): 523-538.

[4] GRACEY A Y, FRASER E J, LI W, et al. Coping with cold: an integrative, multitissue analysis of the transcriptome of a poikilothermic vertebrate[J]. PNAS, 2004, 101: 16970-16975.

[5] GAO J, XU J C, XU P. Gills full-length transcriptomic analysis of osmoregulatory adaptive responses to salinity stress in *Coilia nasus*[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2021, 226: 112848.

[6] CAO D Y, LI J F, HUANG B S, et al. RNA-seq analysis reveals divergent adaptive response to hyper- and hypo-salinity in cobia, *Rachycentron canadum*[J]. Fish Physiol Biochem, 2020, 46(5): 1713-1727.

[7] YAO Z L, WANG H, CHEN L, et al. Transcriptomic profiles of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) in response to alkalinity stress[J]. Genet Mol Res, 2012, 11(3): 2200-2246.

[8] ZHANG Y H, WEN H S, LIU Y, et al. Gill histological and transcriptomic analysis provides insights into the response of spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) to alkalinity stress[J]. Aquaculture, 2023, 563: 738945.

[9] MU Y N, LI W R, WU B, et al. Transcriptome analysis reveals new insights into immune response to hypoxia challenge of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. Fish Shellfish Immunol, 2020, 98: 738-747.

[10] CHEN G, PANG M X, YU X M, et al. Transcriptome sequencing provides insights into the mechanism of hypoxia adaption in bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*)[J]. Comp Biochem Physiol D, 2021, 40: 100891.

[11] CALDUCH G, DAVEY G, SAERA V, et al. Use of microarray technology to assess the time course of liver stress response after confinement exposure in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.)[J]. BMC Genomics, 2010, 11: 193.

[12] CAIRNS M T, JOHNSON M C, TALBOT A T, et al. A cDNA microarray assessment of gene expression in the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to a handling and confinement stressor[J]. Comp Biochem Physiol Part D, 2008, 3(1): 51-66.

[13] 黄智慧, 商晓梅, 薛宝贵, 等. 大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 低温胁迫耐受性能与体表蛋白组学研究[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(3): 638-644.

[14] 李明云, 冀德伟, 吴海庆, 等. 低温胁迫下大黄鱼肝脏蛋白质组双向电泳分析[J]. 农业生物技术学报, 2010, 18(2): 323-328.

[15] LAI K P, TAM N, WANG S Y, et al. Proteomic response of the brain to hypoxic stress in marine medaka fish (*Oryzias melastigma*)[J]. Front Mar Sci, 2021, 8: 618489.

[16] IMBROGNO S, AIELLO D, FILICE M, et al. MS-based proteomic analysis of cardiac response to hypoxia in the goldfish (*Carassius auratus*)[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 18953.

[17] WEN B, JIN S R, CHEN Z Z, et al. Physiological responses to cold stress in the gills of discus fish (*Symphysodon aequifasciatus*) revealed by conventional biochemical assays and GC-TOF-MS metabolomics[J]. Sci Total Environ, 2018, 640/641: 1372-1381.

[18] JIAO S, NIE M M, SONG H B, et al. Physiological responses to cold and starvation stresses in the liver of yellow drum (*Nibea albiflora*) revealed by LC-MS metabolomics[J]. Sci Total Environ, 2020, 715: 136940.

[19] JIANG W W, TIAN X L, FANG Z H, et al. Metabolic responses in the gills of tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) exposed to salinity stress using NMR-based metabolomics[J]. Sci Total Environ, 2019, 653: 465-474.

[20] SUN Y C, WU S, DU N N, et al. High-throughput metabolomics enables metabolite biomarkers and metabolic mechanism discovery of fish in response to alkalinity stress[J]. RSC Adv, 2018, 8(27): 14983-14990.

[21] MUSHTAQ M Y, MARCAL R M, CHAMPAGNE D L, et al. Effect of acute stresses on zebra fish (*Danio rerio*) metabolome measured by NMR-based metabolomics[J]. Planta Med, 2014, 80(14): 1227-1233.

[22] 刘骁, 谢晶, 黄硕琳. 鱼类保活运输的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(8): 255-260.

[23] 袁仲瑾, 岑剑伟, 李来好, 等. 低温暂养对珍珠龙胆石斑鱼存活、非特异性免疫及抗氧化指标的影响[J]. 南方水产科学, 2022, 18(6): 118-126.

[24] YANG Q H, TAN B P, DONG X H, et al. Effects of different levels of *Yucca schidigera* extract on the growth and nonspecific immunity of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and on culture water quality[J]. Aquaculture, 2015, 439: 39-44.

[25] 徐钢春, 杜富宽, 聂志娟, 等. 10‰ 盐度对长江刀鲚幼鱼装载和运输胁迫中应激指标的影响[J]. 水生生物学报, 2015, 39(1): 66-72.

[26] HONG X G, XIA F L, JIA L L, et al. Effects of acute ammonia exposure on antioxidant and detoxification metabolism in clam *Cyclina sinensis*[J]. Eur J Med Chem: Chimie Therapeutique, 2021, 211(2): 111895.

[27] 于淼. 拥挤胁迫对鱼类影响研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008,

36(3): 1078-1080, 1082.

[28] 周显青, 孙儒泳, 牛翠娟. 应激对水生动物生长、行为和生理活动的影响[J]. 动物学研究, 2001(2): 154-158.

[29] 邓红雨, 郑立, 范佳英. 动物运输应激源与应激反应影响因子研究进展[J]. 家畜生态学报, 2015, 36(5): 81-88.

[30] CELI M, FILICIOTTO F, MARICCHIOLO G, et al. Vessel noise pollution as a human threat to fish: assessment of the stress response in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.)[J]. Fish Physiol Biochem, 2015, 42(2): 631-641.

[31] 张饮江, 黎臻, 谢文博, 等. 金鱼对低温、振动胁迫应激反应的试验研究[J]. 水产科技情报, 2012, 39(3): 116-122.

[32] LOWE R, SHIRLEY N, BLEACKLEY M, et al. Transcriptomics technologies[J]. PLoS Comput Biol, 2017, 13(5): e1005457.

[33] QIAN X, BA Y, ZHUANG Q F, et al. RNA-Seq technology and its application in fish transcriptomics[J]. OMICS, 2014, 18(2): 98-110.

[34] 黄勇, 龚望宝, 陈海刚, 等. 基于 RNA-Seq 高通量测序技术的大口黑鲈转录组分析[J]. 南方水产科学, 2019, 15(1): 106-112.

[35] EISSA N, WANG H P. Transcriptional stress responses to environmental and husbandry stressors in aquaculture species[J]. Rev Aquac, 2014, 6: 1-28.

[36] MORA L, GALLEGO M, TOLDRÁ F. New approaches based on comparative proteomics for the assessment of food quality[J]. Curr Opin Food Sci, 2018, 22: 22-27.

[37] KARVE T M, CHEEMA A K. Small changes huge impact: the role of protein posttranslational modifications in cellular homeostasis and disease[J]. Amino Acids, 2015, 2011: 207691.

[38] LAI K P, TAM N, WANG S Y, et al. Proteomic response of the brain to hypoxic stress in marine medaka fish (*Oryzias melastigma*)[J]. Front Mar Sci, 2021, 8: 618489.

[39] ROY S, KUMAR V, KUMAR V, et al. Acute phase proteins and their potential role as an indicator for fish health and in diagnosis of fish diseases[J]. Protein Pept Lett, 2016, 24(1): 78-89.

[40] 陈慧梅, 刘志红. 代谢组学及其研究方法和应用[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2005(1): 59-64.

[41] SAMUELSSON L M, LARSSON D G. Contributions from metabolomics to fish research[J]. Mol Biosyst, 2008, 4(10): 974-979.

[42] MELIS R, ANEDDA R. Biometric and metabolic profiles associated to different rearing conditions in offshore farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.)[J]. Electrophoresis, 2014, 35(11): 1590-1598.

[43] PENA L S, FERRANDO M D, PENA J B. Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by *N*-acetylcysteine[J]. Aquat Toxicol, 2003, 65(4): 337-360.

[44] 陈山乔. 基于代谢组学的水产品物流相关技术研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016: 56-64.

[45] 郑广勇, 曾涛, 李亦学. 前沿信息技术在生物医学大数据中的应用及展望[J]. 遗传, 2021, 43(10): 924-929.

[46] CHEN R, GEORGE I, JENNIFER L, et al. Personal omics profiling reveals dynamic molecular and medical phenotypes[J]. Cell, 2012, 148(6): 1293-1307.

[47] HORGAN R P. 'Omic' technologies: genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics[J]. TOG, 2011, 13: 189-195.

[48] HOGSTRAND C, BALESARIA S, GLOVER C N. Application of genomics and proteomics for study of the integrated response to zinc exposure in a non-model fish species, the rainbow trout[J]. Comp Biochem Physiol B, 2002, 133(4): 523-535.

[49] CHANG E S. Stressed-out lobsters: crustacean hyperglycemic hormone and stress proteins[J]. Integr Comp Biol, 2005, 45(1): 43-50.

[50] ROOT L, CAMP A, MACNIVEN L, et al. Nonlinear effects of environmental salinity on the gill transcriptome versus proteome of *Oreochromis niloticus* modulate epithelial cell turnover[J]. Genomics, 2021: 3235-3249.

[51] 张华琨. 暗纹东方鲀在急性低氧胁迫下鳃和肌肉的转录组及代谢组分析[D]. 大连: 大连海洋大学, 2023: 59-60.

[52] GINER C, DAVEY G, SAER V, et al. Use of microarray technology to assess the time course of liver stress response after confinement exposure in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.)[J]. BMC Genomics, 2010, 1(1): 193.

[53] WANG T W, WANG Y L, LIU X T, et al. Combined transcriptomics and metabolomics analyses in grass carp under anesthetic stress[J]. Front Cell Infect Mi, 2022, 12: 931696.

[54] BATTISTI E K, RABAIOLI A, UCZAY J, et al. Effect of stocking density on growth, hematological and biochemical parameters and antioxidant status of silver catfish (*Rhamdia quelen*) cultured in a biofloc system[J]. Aquaculture, 2020, 524: 735213.

[55] MENG C, KUSTER B, CULHANE, et al. A multivariate approach to the integration of multi-omics datasets[J]. Bmc Bioinformatics, 2014, 15(1): 1-13.

[56] 康玉军. 虹鳟肝脏响应高温胁迫的蛋白质组学与代谢组学研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2020: 91-98.

[57] PRUNET P, OVERLI O, DOUXFILS J, et al. Fish welfare and genomics[J]. Fish Physiol Biochem, 2012, 38(1): 43-60.

[58] 周家蓬, 裴智勇, 陈禹保, 等. 基于高通量测序的全基因组关联研究策略[J]. 遗传, 2014, 36(11): 1099-1111.