

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16267

冷应激对水生动物代谢的影响及调控研究进展

许友卿, 郑一民, 丁兆坤

广西大学 水产科学研究所, 广西高校水生生物健康养殖与营养调控重点实验室, 广西 南宁 530004

摘要: 冷应激严重影响水生动物的生理生化过程, 致其代谢紊乱, 乃至死亡。本文主要从能量代谢、蛋白质代谢、脂肪代谢和核酸代谢 4 个方面, 综述冷应激对水生动物尤其是鱼类代谢的影响、机理、预防及调控研究进展, 旨在深入研究冷应激对水生动物的影响, 进一步探索其机理、预防和调控方法, 抵御冷应激效应, 减少低温特别是急剧降温对水生动物尤其是鱼类的损害。未来应该从基因、分子、细胞、器官和整体水平, 多层次全面深入地研究冷应激对水生动物代谢及其他方面的影响, 特别应从分子和基因水平研究其机理, 同时采取综合措施如改善养殖环境条件, 培育耐寒品种, 用基因工程技术改变鱼的耐寒遗传特性, 在饲料中添加蛋白质、多不饱和脂肪酸、微量元素等提高鱼类的抗冷应激能力, 降低养殖风险, 发展可持续渔业。

关键词: 冷应激; 鱼类代谢; 生理调控; 水生动物

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)05-1149-11

水生动物多为变温动物, 水温对鱼类的摄食、生长、发育、免疫和生殖等活动, 具有多方面生态作用, 不同鱼种都有其适宜的温度环境^[1]。低温或高温都会直接或间接影响鱼类生理功能和生化代谢等^[2]。

冷应激是由低温刺激引起的机体应激。冷应激对机体细胞的生物学影响可概括为: (1)破坏细胞架构; (2)改变脂质双分子层的成分; (3)改变细胞膜的通透性; (4)改变基因表达; (5)抑制转录和翻译, 减少蛋白质合成; (6)加快蛋白质的变性和解离; (7)降低细胞的耗氧量和代谢率; (8)调整氧化还原, 降低细胞循环的进程^[3]。

冷应激是水生动物死亡的主要原因之一。由于冷应激, 中国北方每年冬天都有大量鱼种、成鱼和亲鱼死亡, 损失巨大^[4]。中国南方水产养殖业因冬季冰冻而导致水产养殖业遭受重大打击^[5], 如 2008 年初的冰冻雨雪气候使尼罗罗非鱼(*Oreo-*

chromis niloticus)大量死亡^[6]。生活在高纬度地区、热带和亚热带的鱼类对低温尤为敏感^[7]。因此, 冷应激对水生动物特别是鱼类的影响、机理及调控亟待研究。

本文主要从能量代谢、蛋白质代谢、脂肪代谢和核酸代谢 4 个方面, 综述冷应激对水生动物代谢的影响、机理及调控, 旨在深入了解冷应激对水生动物的影响, 进一步探索其机理、预防和调控方法, 抵御冷应激效应, 减少低温特别是急剧降温对水生动物尤其是鱼类的损害, 保护和发展可持续的渔业。

1 冷应激对水生动物代谢的影响

水温是影响水生动物包括鱼类生理和代谢的最重要环境因素之一^[8-9]。水生动物的冷应激反应包括神经内分泌和一系列生理、代谢、分子和基因改变^[10]。其中对水生动物代谢的影响主要是能

收稿日期: 2016-09-04; 修订日期: 2016-10-20.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31360639); 广西生物学博士点建设项目(P11900116, P11900117); 广西自然科学基金项目(2014GXNSFAA118286, 2014GXNSFAA118292).

作者简介: 许友卿(1958-), 女, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为水生动物营养、生理、生化和分子生物学研究. E-mail: youqing.xu@hotmail.com

通信作者: 丁兆坤, 教授, 博士生导师. E-mail: zhaokun.ding@hotmail.com

量(或糖)代谢、脂肪酸代谢、蛋白质代谢、核酸代谢等。

1.1 冷应激对水生动物能量(或糖)代谢的影响

温度可直接影响鱼类呼吸和能量代谢^[11]。在低温应激下,鱼体一方面能量消耗增加^[12],另一方面神经激素分泌减少,消化酶活性降低,能量代谢酶活性和代谢模式改变,导致鱼类代谢紊乱。例如低温导致草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)肝 6-磷酸葡萄糖脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶浓度分别下降 73.3%和 70.6%,而乳酸脱氢酶浓度上升 83.7%^[13]。低温时,蓝太阳鱼(*Lepomis cyanellus*)脑中参与糖酵解的 5 种酶——6-磷酸葡萄糖异构酶(GPI)、醛缩酶(ALD)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、蛋白激酶(PK)和乳酸脱氢酶(LDH)均增加,而肌肉中上述 5 种酶均下降;肌肉中与有氧代谢相关的 2 种酶——琥珀酸脱氢酶(SDH)、细胞色素 C 氧化酶(CYTOX)却增加,说明于低温条件下,鱼不同组织中的三羧酸循环和糖酵解途径的作用相异^[14]。应激反应是一种耗能过程,会导致机体血糖水平变化和能量(糖)代谢加强。因此,鱼类的高血糖反应被认为是急性冷应激的重要标志^[15]。尼罗罗非鱼在 28℃ 的血糖浓度是 6.25 mmol/L,但在 15℃ 冷应激时,血糖浓度即时升至 10.62 mmol/L,0.5 d 为 10.48 mmol/L,可见冷应激下高血糖反应迅速,1 d 以后逐渐降至起始血糖浓度 6.24 mmol/L,甚至更低 3.13 mmol/L^[16]。Hassan 等^[17]和 Costas 等^[18]也发现,在冷应激时,鱼体内的血糖浓度先升后降。其原因可能有两个:(1)组织糖原分解代谢,以暂时满足鱼体冷应激时增加的能量需求^[15];(2)冷应激使机体皮质醇水平增加,机体释放皮质醇进入血液,诱导糖原异生而显著提高血糖浓度^[19]。

此外,在低温应激下,不同鱼种通过不同的代谢方式来提高自身适应低温的能力。如广温性鱼类栖息于低温时,能通过调节不同代谢途径的酶浓度、转换代谢途径和改变其组织细胞的分子组成,使代谢和生理功能逐渐适应低温环境^[20]。

1.2 冷应激对水生动物脂肪酸代谢的影响

鱼的脂肪酸代谢对温度变化很敏感^[21]。温度主要是通过影响细胞膜中脂肪酸的饱和度,从而影响膜的流动性。膜脂肪酸去饱和被认为是鱼适

应低温的一种重要机制,对维持膜的流动性、酶活力和细胞的正常功能至关重要^[22]。冷应激导致鱼体细胞中脂肪酸组成发生改变,通常导致饱和脂肪酸的比率减少,不饱和脂肪酸所占比率快速上升,进而有利于自主维持细胞膜流动性^[23-25]。当吉富罗非鱼于 15℃ 应激时,肝组织中不同脂肪酸种类的比例变化,与 28℃ 对照组比较, C_{16:0} 及 C_{18:0} 等饱和脂肪酸比例显著下降,亚油酸(C_{18:2n-6})、油酸[C_{18:(1n-9+1n-7)}]、花生四烯酸(C_{20:4n-6})等主要不饱和脂肪酸比例显著升高^[26]。

冷应激促进鱼类合成不饱和脂肪酸。Ruyter 等^[27]发现,大西洋鲑(*Salmo salar*)肝细胞在 5℃ 合成 DHA 量比 12℃ 高。在 5℃ 条件下,冷水性虹鳟(*Salmo gairdneri*)的肝细胞比温水性的虹鳟肝细胞能够更有效地将 C_{18:3n-3} 合成 C_{22:6n-3}。可能是因为冷水性的虹鳟更倾向将 n-3 HUFA 整合到细胞膜的极性脂类中,而温水性的虹鳟对不饱和脂肪酸没有偏好性^[28]。冷应激激活鱼脂肪酸代谢关键酶——硬脂酰辅酶 A 去饱和酶(SCD)、Δ6 和 Δ9 脂肪酸去饱和酶,有助于合成不饱和脂肪酸,增加不饱和脂肪酸的比例,提高细胞膜的流动性,增强鱼对低温适应的能力^[29-30]。虹鳟肠上皮细胞和肝细胞的 Δ6 去饱和酶的活性在 5℃ 或 7℃ 时分别高于 20℃ 或 15℃ 时,但随着温度的升高,机体的 Δ6 去饱和酶活性反而降低^[31-32]。当罗非鱼暴露在 12~14℃ 下 7 d,其 Δ9 脂肪酸去饱和酶基因在肌肉和鳃中的表达量分别是对照组(28℃)的 16 倍和 2 倍,表明这些组织在冷应激时代谢活动较高^[33]。卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)肝中的硬脂酰辅酶 A 去饱和酶(SCD)的活性,随温度的降低而显著升高,表明为了应对低温的刺激,鱼类会增加肝中 SCD 基因的转录和翻译,增加体内 SCD 酶的活性。高含量的 SCD 酶会进一步促进鱼体内饱和脂肪酸转化为不饱和脂肪酸,增加不饱和脂肪酸有助于增加细胞膜的流动性,从而减少低温对鱼类的伤害^[34]。

冷应激改变 SCD1 mRNA 的表达量。Xu 等^[35]研究发现,温度从 15℃ 下降至 11℃ 时,大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)肝中的 SCD1 mRNA 表达量急剧下降,降至 7℃ 的第 1 天其表达量开始上

升, 在 7℃ 最后一天再下降。而在脑中, *SCD1* mRNA 的表达量从 15℃ 降至 9℃ 时没有明显改变, 当温度从 9℃ 继续下降时, 其表达量开始显著增加。结果表明, *SCD1* mRNA 在肝中表达量的变化主要是受到冷应激和饥饿应激的影响, 而在脑中表达主要是受到冷应激影响。

冷应激增加鱼体的氧化脂质水平。Ibarz 等^[36]报道, 为适应 8℃ 冷应激, 金头鲷(*Sparus aurata*)肝中的氧化脂质水平显著增加($P < 0.05$)。

1.3 冷应激对水生动物蛋白质代谢的影响

蛋白质是水生动物体内重要的营养物质, 冷应激影响蛋白质的分解和合成代谢。在低温刺激时, 蛋白质会自动分解为氨基酸, 一方面用于蛋白质合成与周转, 另一方面可能承担着抗应激的功能^[37]。冷应激影响生物酶活性, 降低或障碍机体细胞新陈代谢和蛋白质合成等^[38]。Zhou 等^[39]发现, 随着温度降低, 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)血清中 14 种游离氨基酸(FAA)的含量不断减少, 而肝胰腺中 5 种 FAA 含量却反而不断增加。

冷应激影响蛋白质的稳定性、折叠的速率和折叠的正确性。冷应激导致北极地区鱼类(*Trematomus bernacchii*, *T. pennellii*, *Pagothenia borchgrevinkii*)更多蛋白变性, 表现为北极鱼中泛素结合蛋白水平比新西兰等地同种鱼的泛素结合蛋白水平高, 因为在极端低温应激时, 鱼体的蛋白质平衡被打乱, 导致更多的蛋白质变性^[40]。在 8.5℃ 胁迫下, 岱衢族大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)血清总蛋白(TP)和白蛋白(ALB)浓度显著降低, 但随着时间延长, 其浓度又回升^[41]。由于冷应激影响蛋白质的稳定性、折叠的速率和折叠的正确性, 因此低温刺激导致细胞降解、蛋白质修饰展开和错误折叠^[42]。

冷应激影响热休克蛋白的表达。热休克蛋白(heat shock protein, HSP)被称作应激蛋白或外源性分子伴侣, 是一类在细胞内具有不同分子量的高度保守膜外蛋白^[43]。HSP 表达是生物细胞逃避有害刺激的最原始机制之一。冷、热、低氧、活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)、重金属、某些细菌或寄生虫感染等, 几乎所有应激源均可诱导机体细胞的 HSP 表达^[44], 而且几乎所有生

物应激细胞都高度表达或抑制 HSP70。HSP70 协助细胞或生物体从应激状态中恢复, 并保护其免受应激的损害, 是反映机体对环境 and 代谢应激综合反应的指标^[45]。在正常细胞中 HSP70 水平较低, 且高度保守。在应激状态下 HSP70 显著升高, 可作为应激反应和评价组织细胞处于危险状态的分子生物标志, 故倍受关注^[46]。虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)在 10℃ 急性冷应激下 3 h, 鳃中的 Hsp70 是 15℃ 对照组的 3.1 倍, 但在 6 h 后降至最低水平($P < 0.01$)^[47]。在 16℃ 低温应激 6 h 后, 吉富系罗非鱼肝组织 HSP70 mRNA 表达量为 26℃ 对照组的 2.8 倍, 但于 24 h 后该表达水平急剧下降^[48]。然而, 在(9±1)℃ 急性低温应激下, 吉富罗非鱼肝 HSP70 mRNA 水平在 12 h 显著升高^[49]。还有研究表明, HSP70 对细胞的保护作用有其局限性, 如果应激延续时间过久, 或超过一定强度, HSP70 对机体的保护能力也会随之下降^[48]。

冷应激影响抗冻蛋白基因的表达。比目鱼(*Pleuronectus americanus*)肝型抗冻蛋白(antifreeze proteins, AFPs)的 mRNA 冬季的表达量是夏季的几百倍^[50]。目前研究得最清楚的是鱼类 AFPs。AFPs 首先被发现于南极一种鱼类的血液中, 在鱼受冻时产生, 能防止细胞免受冰害。AFPs 具有热滞效应和抑制冰晶重结晶的特性^[51]。AFPs 不仅抗冻, 还能抗病。南极鱼的 AFPs 包括抗冻糖蛋白(AFGPs)、I 型抗冻蛋白(AFPI)、II 型抗冻蛋白(AFP II)和 III 型抗冻蛋白(AFP III)^[52]。

冷应激影响金属硫蛋白的表达。金属硫蛋白(MT)是富含半胱氨酸的金属结合蛋白。由于 MT 富含半胱氨酸巯基, 故其清除 ROS 的能力比体内的主要抗氧化酶——谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)和超氧化物歧化酶(superoxidedismutase, SOD)强得多, MT 清除羟基自由基能力约是 GPx 的 100 倍, 是 SOD 的 1000 倍。MT 除直接清除冷应激产生的 OH·外, 还能显著提高 SOD、GPx 的活性, 对提高水生动物抗病力、产量和品质具有重要意义^[53]。

1.4 冷应激对水生动物核酸代谢的影响

冷应激影响机体 DNA 复制、转录和翻译。低温应激时, 细胞 DNA 易受损伤, 如 DNA 复制、

碱基配对错误、碱基互变异构、碱基脱氨、碱基修饰、碱基缺失将会发生,结果可能影响细胞的功能和遗传特性^[54]。对鱼类来说,DNA复制、转录和翻译是其对低温应激反应的标志^[55]。Ciji等^[56]发现,温度显著影响南亚黑鲩(*Labeo rohita*)RNA含量以及RNA/DNA比率。原核细胞生长率相应地伴随着核酸代谢的改变,RNA与DNA比率是组织合成蛋白能力的一项指标^[57]。在许多硬骨鱼中,RNA:DNA比率也是水生动物营养状态和生长率的一项指标^[58-59]。Bernreuther等发现,在水温16℃,大西洋鲱(*Clupea harengus* L.)肌肉组织RNA/DNA比率(RD)随着生长率的增加而增加,这种比率能用于检测鲱幼鱼在有利和不利环境条件下的生长状况^[60]。Peck等^[61]发现,波罗的海鲱(*Sprattus sprattus* L.)RNA/DNA比率和生长率呈线性关系,在18℃水温,投喂2.2 μg/μg饲料的组RD比率和生长率呈最高值。Akhtar^[62]在南亚黑鲩(*Labeo rohita*)的研究也得出相似的结论。

2 冷应激影响水生动物的机理

冷应激反应的机理十分复杂,目前认为,冷应激主要通过下述机制影响水生动物。

2.1 通过影响 MAPK 信号通路

冷应激反应与细胞内信号系统特别是MAPK信号通路密切相关^[63]。MAPK信号通路包括4条不同的信号通路——细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)/应急激活蛋白激酶(SAPKs)、p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)、细胞外信号调节激酶5(ERK5)/大丝裂素活化蛋白激酶1(BMK1)^[64-65]。低温刺激可以通过细胞表面的蛙皮素(Bombesin)受体,提高细胞内Ca⁺浓度,激活蛋白激酶c(PKC),进而激活ERK或JNK/p38信号通路^[66-67]。冷应激抑制大黄鱼(*Larimichthys crocea*)ERK2转录子的表达水平,而热应激促进表达^[68]。冷热应激提高p38MAPK和JNK的磷酸化水平,而磷酸化的p38MAPK和JNK参与对低温应激的防御反应^[69-70]。一般认为,细胞内的MAPK信号通路易受到中枢神经系统内大量细胞外信号分子或生物活性分子的影响,例如各种离子、蛋白因子、细胞因子等,它们通过

刺激细胞表面的特定受体或离子通道激活或抑制MAPK信号通路来完成冷热刺激的反应^[71]。

2.2 通过影响 DNA 去甲基化

温度胁迫影响DNA的甲基化水平。研究发现,经过连续多代的低温胁迫,可改变尼罗罗非鱼DNA甲基化水平,发生去甲基化反应,表现为基因组甲基化程度降低。说明DNA甲基化与罗非鱼抗寒性反应密切相关^[72]。有关鱼类抗冷应激反应和DNA甲基化的关系还有待更深入的研究。

2.3 通过影响基因表达

冷应激影响基因表达,使水生动物许多抗应激相关的基因高于或低于正常的转录和表达。Barat等^[9]研究发现,在5℃水温时,理氏裂腹鱼(*Schizothorax richardsonii*)GPDH基因在肝的表达是15℃对照组的19倍,这表明GDPH参与应激反应。受精后2d暴露于18℃水中的斑马鱼(*Danio rerio*)胚胎/幼鱼CRH,UI和Ulla mRNA的表达水平比28℃对照组显著下降,表明这些基因可能是斑马鱼早期发育阶段的特异应激因子,其表达水平受温度调节^[73]。在4℃适应时,淡水鳕(*Lota lota linnaeus*)心脏肌浆网Ca²⁺-ATP酶(SERCA)蛋白表达量是其18℃适宜温度下的4倍^[74]。Fan等^[75]研究发现,南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*)在13℃冷应激48h后,肝胰腺的pCBI和PAI基因表达水平分别是28℃对照组的1/4和1/3;而CHI基因表达是对照组的4.219倍,HC基因表达是对照组的9.895倍。当温度从25℃降至20℃时,丰年虾(*Artemia sinica*)糖原磷酸化酶基因(GPase gene)的表达量下降,而当温度进一步从15℃降至5℃时,其表达量却上升^[52]。Zhao等^[76]研究发现,与22℃对照组比较,三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)在10℃冷应激3d后,参与能量、物质代谢和免疫反应的海藻糖-6-磷酸合成酶1a亚型基因、果糖1,6-二磷酸醛缩酶基因、泛素基因、铁蛋白基因的表达量均显著增加($P<0.05$);而胰凝乳蛋白酶BI基因和抗脂多糖因子基因型2基因表达量显著降低($P<0.05$);这些基因表达可能反映了甲壳类动物对冷应激的生理适应机制。

过去认为鱼类越冬死亡是低温、饥饿和生理应激相互作用所致^[77]。但实验表明,鱼主要因冷

应激和不能适应而死亡^[78]。过去多从生理和生化角度探索鱼的冷应激机理,随着分子生物学的发展,从基因水平上获得了一些与低温适应性状相关的功能基因和分子标记^[79],从转录水平上发现了一些与冷适应相关的生物学过程及调控基因的变化,如参与信号转导^[80]、转录起始、线粒体新陈代谢^[81]、脂类代谢、蛋白质折叠及降解^[82]等基因表达的变化。已经发现,与冷应激相关的基因表达约 21 种,其中多数于冷应激时表达增加,只有 E-选择素基因表达下降。它们变化的机制及时间相异,但大多数与冷应激相关基因的作用机制未明^[83]。

冷应激反应的机理十分复杂。温和的冷应激可诱发细胞的保护性应激反应,抑制凋亡程序发生,而极端的冷应激可激活凋亡程序^[84]。尽管关于硬骨鱼冷应激反应的研究较多,但其机制未明^[85]。在低温条件下,鲤(*Cyprinus carpio*)可能通过神经调节,增加神经中枢细胞内外的物质运输及交换作用,促进不饱和脂肪酸代谢,启动某些基因,提高细胞转录活动,以适应冷环境^[86]。在冬天水温降至 5℃时,雪鲑(*Schizothorax richardsonii*)肝 3-磷酸脱氢酶(glycerol-3-phosphate dehydrogenase, GPDH)的表达量是其于 15℃时的 19 倍, GPDH 基因在雪鲑的冷适应中可能发挥关键作用^[9]。

分子水平的变化是机体各种生理生化反应的基础。研究鱼类冷应激代谢和营养调控的分子机制,可发挥鱼自身的巨大潜力,提高抗冷性和预防水平,减少损害,保障可持续生长发育。因此,该领域的研究不仅具有重要的理论意义,而且对预防鱼类冷应激和冷应激带来的损失具有重大现实意义。

3 冷应激对水生动物(或鱼类)影响的预防和调控

3.1 改善养殖环境条件

全面检修养殖场地挡风防寒设施,防止冷风直接吹袭养殖池;罗非鱼、鲮(*Cirrhinus molitorella*)、淡水白鲳(*Colossoma brachypomum*)等不耐低温鱼类的越冬池,应采取加盖防寒薄膜,使用冬季保温和防寒加温设备,适当提高养殖温度,通过提

高养殖池水位,保持水深在 2 m 以上,提高保温能力;对于网箱养殖场,网箱应尽量下沉,进行水下沉箱越冬^[22, 87]。

3.2 培育耐寒品种或品系

不同品种、品系的鱼个体对寒冷应激的敏感性不同,通过杂交选育可以改变鱼的耐寒性,是提高鱼类低温适应能力的有效育种方法^[13]。近年来,科研工作者们已对不同品系、家系的罗非鱼进行了耐寒选育研究,为耐寒罗非鱼的选育提供材料和理论支持^[72, 88-90]。

3.3 抗寒基因工程

用基因工程手段改造鱼的耐寒遗传特性,利用分子生物学技术将抗冻蛋白导入无抗冻活性的水产生物内,使其获得一定的抗冻活性,是目前探索和发展的方向。Hew 等^[91]将北美黄盖蝶(*Pseudopleuronectes americanus*)抗冻蛋白基因微量注入鲑的受精卵内,获得了遗传表达 AFP 的转基因鲑。杨晓蓓^[92]首次将目前已知具有最强抗冻活性的云杉卷叶蛾(*Spruce budworm, Choristoneura fumiferana*)抗冻蛋白(sbwAFP)基因,通过精子介导的转基因技术整合到罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)的胚胎中,获得了具有 sbwAFP 基因整合的虾胚胎。

3.4 营养调控

通过营养调控提高鱼类的抗寒力是切实可行的措施之一。蛋白质与鱼体免疫力和抗寒力密切相关,在日粮中添加数量充足、容易消化吸收、氨基酸平衡的蛋白质能保证鱼类在低温下正常生长和越冬。Charo-Karisa 等^[93]发现,富含蛋白的饵料对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)耐寒力有增强作用,与普通饲料相比差异显著。Huang 等^[94]发现,在 18℃时,镜鲤(*Cyprinus carpio*)幼鱼日粮中最适蛋白含量为 343~348 g/kg。

膜磷脂中饱和与不饱和脂肪酸的比例决定生物膜的流动性,投喂富含不饱和脂肪酸的饲料能够显著改变鱼体的脂肪酸的组成,在低温下提高细胞膜的流动性。Craig 等^[95]研究发现,富含不饱和脂肪酸的饲料能显著提升眼斑拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*)的耐寒力。

通过补充微量元素可提高酶活性、抗氧化和

抗寒力。补充维生素 C、谷氨酰胺和维生素 E 等自由基清除剂,可提高生物体对自由基的清除能力或保护酶蛋白的巯基,提高细胞膜流动性和减轻自由基对其他生物分子的损伤,从而提高抗寒能力^[96-97]。在日粮中补充磷能提高鱼在冷应激下的细胞活力、抗氧化能力、供能和脂类转运^[98]。

4 结语与展望

冷应激对水生动物的代谢的影响涉及生理、生化和分子生物学等各个层面。因此,还要深入研究其影响,更要深入探究影响机理,未来应该综合利用多学科,从基因、分子、细胞、器官和整体水平,多层次地全面深入地研究冷应激对水生动物代谢及其他方面的影响,特别要注重用现代分子生物学技术从分子和基因水平研究其机理。具体地说,应注意以下四个方面:

(1) 冷应激影响水生动物的基因、分子、细胞、组织器官和整体的生理、生化等过程,应综合研究。

(2) 除水温外,鱼等水生动物还受其他环境条件、营养、生理功能、盐度等多种因素的影响,应综合研究。

(3) 注重深入研究基因、细胞信号通路、细胞膜流动性等冷应激机制。

(4) 采取综合措施如改善养殖环境条件、培育耐寒品种、用基因工程技术改变鱼的耐寒遗传特性、在饲料中添加蛋白质、多不饱和脂肪酸、微量元素等提高鱼类的抗冷应激能力,减少低温特别是急剧降温对水生动物尤其是鱼类的损害,降低养殖风险,保护和发展可持续的渔业。

参考文献:

- [1] Xu Y Q, Cao Z W, Ding Z K. Effects and prevention of high temperature on fishes[J]. Fisheries Science, 2010, 29(4): 235-242. [许友卿, 曹占旺, 丁兆坤, 等. 高温对鱼类的影响及其预防研究[J]. 水产科学, 2010, 29(4): 235-242.]
- [2] Xu Q Y, Huang J F. Effect of environmental temperature and protein level on growth and metabolism of fish[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2011, 42(12): 1-8. [徐奇友, 黄金凤. 环境温度和蛋白质水平对鱼类生长和代谢的影响[J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(12): 1-8.]
- [3] Sonna L A, Fujita J, Gaffin S L, et al. Invited review: effects of heat and cold stress on mammalian gene expression[J]. J Appl Physiol, 2002, 92(4): 1725-1742.
- [4] Cheng H L, Xia D Q, Wu T T. Advancement in research one effect of nutrition on cold resistance in fish[J]. Fisheries Science, 2005, 24(9): 41-44. [程汉良, 夏德全, 吴婷婷. 营养对鱼类抗寒力影响的研究进展[J]. 水产科学, 2005, 24(9): 41-44.]
- [5] Ou Y J. Impact on fishery production by frost disaster in southern China[J]. Chinese Fisheries Economics, 2008, 26(4): 89-93. [区又君. 低温冰冻灾害对我国南方渔业生产的影响, 存在问题和建议[J]. 中国渔业经济, 2008, 26(4): 89-93.]
- [6] Huang M H. Suggestion and analysis of cold death phenomena of tilapia in large area in Guangdong[J]. Ocean and Fishery, 2008 (3): 15-16. [黄明华. 浅析广东罗非鱼大面积冻死现象原因及建议[J]. 海洋与渔业, 2008(3): 15-16.]
- [7] Stoner A W, Ottmar M L, Copeman L A. Temperature effects on the molting, growth, and lipid composition of newly-settled red king crab[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2010, 393(1-2): 138-147.
- [8] Chen H R, Sun L H, Hu J X, et al. Primary analysis on genetic diversity in cultured stock of *Paralichthys lethostigma*[J]. Marine Sciences, 2006, 30(2): 5-9. [陈浩如, 孙丽华, 胡建兴, 等. 军曹鱼生物学特性及苗种规模化繁育技术[J]. 海洋科学, 2006, 30(2): 5-9.]
- [9] Barat A, Goel C, Tyagi A, et al. Molecular cloning and expression profile of snow trout GPDH gene in response to abiotic stress[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(12): 10843-10849.
- [10] Jawad L A. Sparidae: biology and aquaculture of gilthead sea bream and other species - Edited by MA Pavlidis and CC Mylonas[J]. J Fish Biol, 2012, 81(6): 2100-2101.
- [11] Carvalho C S, Fernandes M N. Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH[J]. Aquaculture, 2006, 251(1): 109-117.
- [12] Wang J Y, Song Z D, Li P Y, et al. The effect of fat content of formula feed on the growth of grouper *Epinephelus awoara* at low temperature[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2010(1): 7-14. [王际英, 宋志东, 李培玉, 等. 低温条件下饲料的脂肪含量对石斑鱼生长的影响[J]. 海洋湖沼通报, 2010(1): 7-14.]
- [13] Cao Y C, Wang Z X. Study on the mechanism of low temperature adaptation in fish I. Effect of acclimation temperature on isozyme activities and isozyme patterns in tissues of grass carp and mud carp[J]. Journal of South China Agricultural University, 1991, 12(3): 69-74. [曹永长, 王祖熊. 鱼类低温适应机制的研究: (I) 驯化温度对草鱼和鲢鱼几种同工酶活性及酶谱的影响[J]. 华南农业大学学报, 1991,

- 12(3): 69–74.]
- [14] Hardewig I, Van Dijk P L M, Pörtner H O. High-energy turnover at low temperatures: recovery from exhaustive exercise in Antarctic and temperate eelpouts[J]. *Am J Physiol: Regul Integr Comp Physiol*, 1998, 274(6): R1789–R1796.
- [15] Hsieh S L, Chen Y N, Kuo C M. Physiological responses, desaturase activity, and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) under cold acclimation[J]. *Aquaculture*, 2003, 220(1): 903–918.
- [16] Shi G C, Dong X H, Chen G, et al. Physiological responses and HSP70 mRNA expression of GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under cold stress[J]. *Aquac Res*, 2015, 46(3): 658–668.
- [17] Hassan B, El-Salhia M, Khalifa A, et al. Environmental isotonicity improves cold tolerance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in Egypt[J]. *Egypt J Aquat Res*, 2013, 39(1): 59–65.
- [18] Costas B, Aragão C, Ruiz-Jarabo I, et al. Different environmental temperatures affect amino acid metabolism in the eurytherm teleost Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) as indicated by changes in plasma metabolites[J]. *Amino acids*, 2012, 43(1): 327–335.
- [19] Pankhurst N W. The endocrinology of stress in fish: an environmental perspective[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2011, 170(2): 265–275.
- [20] Cussac V E, Fernández D A, Gómez S E, et al. Fishes of southern South America: a story driven by temperature[J]. *Fish Physiol Biochem*, 2009, 35(1): 29–42.
- [21] Farkas T, Csengeri I, Majoros F, et al. Metabolism of fatty acids in fish: III. Combined effect of environmental temperature and diet on formation and deposition of fatty acids in the carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758[J]. *Aquaculture*, 1980, 20(1): 29–40.
- [22] Xu Y Q, Chen Z, Ding Z K. Effects of low temperature on fish and its prevention[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2012, 39(15): 132–136. [许友卿, 陈哲, 丁兆坤. 低温对鱼类的影响及其预防[J]. *广东农业科学*, 2012, 39(15): 132–136.]
- [23] Qiang J, He J, Yang H, et al. Temperature modulates hepatic carbohydrate metabolic enzyme activity and gene expression in juvenile GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed a carbohydrate-enriched diet[J]. *Fish Physiol Biochem*, 2014, 40: 25–31.
- [24] Hsieh S L, Hu C Y, Hsu Y T, et al. Influence of dietary lipids on the fatty acid composition and stearoyl-CoA desaturase expression in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) under cold shock[J]. *Comp Biochem Physiol B*, 2007, 147(3): 438–444.
- [25] Duan Z G, Wu J Y, Li W S. Research progress on effects of low temperature on tilapia[J]. *South China Fisheries Science*, 2011, 7(6): 77–82. [段志刚, 吴金英, 李文笙. 低温对罗非鱼类影响的相关研究进展[J]. *南方水产科学*, 2011, 7(6): 77–82.]
- [26] Shi G C, Dong X H, Chen G, et al. Effects of dietary lipid level on growth performance of genetic improvement of farmed tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*) and its serum biochemical indices and fatty acid composition under cold stress Chinese journal of animal nutrition[J]. 2012, 24(11): 2154–2164. [石桂城, 董晓慧, 陈刚, 等. 饲料脂肪水平对吉富罗非鱼生长性能及其在低温应激下血清生化指标和肝脏脂肪酸组成的影响[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(11): 2154–2164.]
- [27] Ruyter B, RøjØ C, Grisdale-Helland B, et al. Influence of temperature and high dietary linoleic acid content on esterification, elongation, and desaturation of PUFA in Atlantic salmon hepatocytes[J]. *Lipids*, 2003, 38(8): 833–840.
- [28] Sellner P A, Hazel J R. Incorporation of polyunsaturated fatty acids into lipids of rainbow trout hepatocytes[J]. *Am J Physiol: Regul Integr Comp Physiol*, 1982, 243(3): R223–R228.
- [29] Trueman R J, Tiku P E, Caddick M X, et al. Thermal thresholds of lipid restructuring and delta (9)-desaturase expression in the liver of carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. *J Exp Biol*, 2000, 203(3): 641–650.
- [30] Vagner M, Santigosa E. Characterization and modulation of gene expression and enzymatic activity of delta-6 desaturase in teleosts: a review[J]. *Aquaculture*, 2011, 315(1): 131–143.
- [31] Hagar A F, Hazel J R. Changes in desaturase activity and the fatty acid composition of microsomal membranes from liver tissue of thermally-acclimating rainbow trout[J]. *J Comp Physiol B*, 1985, 156(1): 35–42.
- [32] Tocher D R, Fonseca-Madriral J, Dick J R, et al. Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Comp Biochem Physiol B*, 2004, 137(1): 49–63.
- [33] Zerafi D B, Fitzsimmons K M, Collier R J. Transcriptional response of delta-9-desaturase gene to acute and chronic cold stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. *J World Aquac Soc*, 2010, 41(5): 800–806.
- [34] Ran C C. Effects of dietary lipid levels on physiological and biochemical index of juvenile *T. ovatus* under different cold stress[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University 2013. [冉长城. 饲料脂肪水平对低温胁迫下卵形鲳鲹生理生化指标的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2013.]

- [35] Xu H, Zhang D L, Lv C H, et al. Molecular cloning and expression analysis of *scd1* gene from large yellow croaker *Larimichthys crocea* under cold stress[J]. *Gene*, 2015, 568(1): 100–108.
- [36] Ibarz A, Martín-Pérez M, Blasco J, et al. Gilthead sea bream liver proteome altered at low temperatures by oxidative stress[J]. *Proteomics*, 2010, 10(5): 963–975.
- [37] Zhou M, Wang A L, Miao Y T, et al. Research advances on low temperature stress in shrimp and crab[J]. *Feed Industry*, 2011, 32(22): 45–48. [周萌, 王安利, 苗玉涛, 等. 虾蟹低温应激研究进展[J]. *饲料工业*, 2011, 32(22): 45–48.]
- [38] Salahudeen A K. Cold ischemic injury of transplanted kidneys: new insights from experimental studies[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2004, 287(2): F181–F187.
- [39] Zhou M, Wang A L, Xian J A. Variation of free amino acid and carbohydrate concentrations in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: effects of continuous cold stress[J]. *Aquaculture*, 2011, 317(1): 182–186.
- [40] Todgham A E, Hoaglund E A, Hofmann G E. Is cold the new hot? Elevated ubiquitin-conjugated protein levels in tissues of Antarctic fish as evidence for cold-denaturation of proteins *in vivo*[J]. *J Comp Physiol B*, 2007, 177(8): 857–866.
- [41] Ji D W, Li M Y, Wang T Z, et al. Effects of low temperature stress periods on serum biochemical indexes in large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*[J]. *Fisheries Science*, 2009, 28(1): 1–4. [冀德伟, 李多云, 王天柱, 等. 不同低温胁迫时间对大黄鱼血清生化指标的影响[J]. *水产科学*, 2009, 28(1): 1–4.]
- [42] Long Y, Li L, Li Q, et al. Transcriptomic characterization of temperature stress responses in larval zebrafish[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e37209.
- [43] Sonna L A, Fujita J, Gaffin S L, et al. Invited review: effects of heat and cold stress on mammalian gene expression[J]. *J Appl Physiol*, 2002, 92(4): 1725–1742.
- [44] Mikami T, Sumida S, Ishibashi Y, et al. Endurance exercise training inhibits activity of plasma GOT and liver caspase-3 of rats exposed to stress by induction of heat shock protein 70[J]. *J Appl Physiol*, 2004, 96(5): 1776–1781.
- [45] Liu R Y, Corry P M, Lee Y J. Regulation of chemical stress-induced hsp70 gene expression in murine L929 cells[J]. *J Cell Sci*, 1994, 107(8): 2209–2214.
- [46] Liew P K, Zulkifli I, Hair-Bejo M, et al. Effects of early age feed restriction and heat conditioning on heat shock protein 70 expression, resistance to infectious bursal disease, and growth in male broiler chickens subjected to heat stress[J]. *Poul Sci*, 2003, 82(12): 1879–1885.
- [47] Jiang W, Li J, Gao Y, et al. Effects of temperature change on physiological and biochemical responses of Yesso scallop, *Patinopecten yessoensis*[J]. *Aquaculture*, 2016, 451: 463–472.
- [48] Qiang J, Yang H, Wang H, et al. The effect of acute temperature stress on biochemical indices and expression of liver Hsp70 mRNA in gift Nile tilapia juveniles(*Oreochromis niloticus*)[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2012(5): 943–953. [强俊, 杨弘, 王辉, 等. 急性温度应激对吉富品系尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)幼鱼生化指标和肝脏 HSP70 mRNA 表达的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2012(5): 943–953.]
- [49] Liu B, Wang M Y, Xie J, et al. Effects of acute cold stress on serum biochemical and immune parameters and liver HSP70 gene expression in GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(17): 4866–4873. [刘波, 王美垚, 谢骏, 等. 低温应激对吉富罗非鱼血清生化指标及肝脏 HSP70 基因表达的影响[J]. *生态学报*, 2011, 31(17): 4866–4873.]
- [50] Gong Z Y, King M J, Fletcher G L, et al. The antifreeze protein genes of the winter flounder, *Pleuronectes americanus*, are differentially regulated in liver and nonliver tissues[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, 206(1): 387–392.
- [51] Knight C A, Duman J G. Inhibition of recrystallization of ice by insect thermal hysteresis proteins: a possible cryoprotective role[J]. *Cryobiology*, 1986, 23(3): 256–262.
- [52] Zhong Q W, Fan T J. Advances in fish antifreeze protein research[J]. *Acta Biochimica Et Biophysica Sinica*, 2002, 34(2): 124–130. [钟其旺, 樊廷俊. 鱼类抗冻蛋白的研究进展[J]. *生物化学与生物物理学报: 英文版*, 2002, 34(2): 124–130.]
- [53] Tan S H, Yuan Z D, Zhong C L. Research advances on aquatic invertebrate metallothionein[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2012(4): 35–40. [谭树华, 袁志栋, 钟彩良. 水生无脊椎动物金属硫蛋白研究进展[J]. *生物技术通报*, 2012(4): 35–40.]
- [54] Yang C, Jiang M, Wen H, et al. Analysis of differential gene expression under low-temperature stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using digital gene expression[J]. *Gene*, 2015, 564(2): 134–140.
- [55] Logan C A, Somero G N. Effects of thermal acclimation on transcriptional responses to acute heat stress in the eurythermal fish *Gillichthys mirabilis* (Cooper)[J]. *Am J Physiol: Regul Integr Comp Physiol*, 2011, 300(6): R1373–R1383.
- [56] Ciji A, Sahu N P, Pal A K, et al. Effect of dietary gelatinized starch level and rearing temperature on fatty acid profile and DNA/RNA ratio of *Labeorohita* (Hamilton) fingerlings[J]. *Isr J Aquacult-Bamid*, 2013, 64: 836–841.

- [57] Larson D E, Zahradka P, Sells B H. Control points in eucaryotic ribosome biogenesis[J]. *Biochem Cell Biol*, 1991, 69(1): 5–22.
- [58] Grimm C, Lehmann K, Clemmesen C, et al. RNA/DNA ratio is an early responding, accurate performance parameter in growth experiments of noble crayfish *Astacus astacus* (L.)[J]. *Aquac Res*, 2015, 46(8): 1937–1945.
- [59] Gwak W S, Tanaka Y, Tominaga O, et al. Field evaluation by RNA/DNA ratios on post-release nutritional status of released and wild Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* juveniles[J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2003, 293(1): 107–124.
- [60] Bernreuther M, Herrmann J P, Peck M A, et al. Growth energetics of juvenile herring, *Clupea harengus* L.: food conversion efficiency and temperature dependency of metabolic rate[J]. *J Appl Ichthyol*, 2013, 29(2): 331–340.
- [61] Peck M A, Baumann H, Bernreuther M, et al. The ecophysiology of *Sprattus sprattus* in the Baltic and North Seas[J]. *Prog Oceanogr*, 2012, 103: 42–57.
- [62] Akhtar M S, Pal A K, Sahu N P, et al. Physiological responses of dietary tryptophan fed *Labeo rohita* to temperature and salinity stress[J]. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 2013, 97(6): 1075–1083.
- [63] Kim B M, Rhee J S, Lee K W, et al. UV-B radiation-induced oxidative stress and p38 signaling pathway involvement in the benthic copepod *Tigriopus japonicus*[J]. *Comp Biochem Physiol C: Pharmacol Toxicol Endocrinol*, 2015, 167: 15–23.
- [64] Yang S H, Sharrocks A D, Whitmarsh A J. MAP kinase signalling cascades and transcriptional regulation[J]. *Gene*, 2013, 513(1): 1–13.
- [65] Hayashi M, Kim S W, Imanaka-Yoshida K, et al. Targeted deletion of BMK1/ERK5 in adult mice perturbs vascular integrity and leads to endothelial failure[J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(8): 1138–1148.
- [66] Lisovsky M, Itoh K, Sokol S Y. Frizzled receptors activate a novel JNK-dependent pathway that may lead to apoptosis[J]. *Curr Biol*, 2002, 12(1): 53–58.
- [67] Mielke K, Herdegen T. JNK and p38 stresskinases- degenerative effectors of signal-transduction-cascades in the nervous system[J]. *Prog Neurobiol*, 2000, 61(1): 45–60.
- [68] Jia Q J, Fan Z J, Yao C L. Identification and expression profiles of ERK2 and ERK5 in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) after temperature stress and immune challenge[J]. *Fish Shellfish Immun*, 2015, 44(2): 410–419.
- [69] Yao C L, Somero G N. The impact of acute temperature stress on hemocytes of invasive and native mussels (*Mytilus galloprovincialis* and *Mytilus californianus*): DNA damage, membrane integrity, apoptosis and signaling pathways[J]. *J Exp Biol*, 2012, 215(24): 4267–4277.
- [70] Li F, Jun X I A, Li J, et al. p38 MAPK is a component of the signal transduction pathway triggering cold stress response in the MED cryptic species of *Bemisia tabaci*[J]. *J Integr Agr*, 2012, 11(2): 303–311.
- [71] Wang J T, Yin L, Tian S J, et al. Effect of acute cold or heat stress on ERK activation in the spinal cord and ganglia of rats[J]. *Chinese Journal of Neuroanatomy*, 2009, 25(2): 163–169. [王进堂, 尹岭, 田淑君, 等. 急性冷热应激对大鼠脊髓和脊神经节 ERK 信号转导的影响[J]. 神经解剖学杂志, 2009, 25(2): 163–169.]
- [72] Zhu H P, Lu M X, Huang Z H, et al. Effect of low temperature on genomic DNA methylation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(10): 1460–1467. [朱华平, 卢迈新, 黄樟翰, 等. 低温对罗非鱼基因组 DNA 甲基化的影响[J]. 水产学报, 2013, 37(10): 1460–1467.]
- [73] Luo L, Chen A, Hu C, et al. Dynamic expression pattern of corticotropin-releasing hormone, urotensin I and II genes under acute salinity and temperature challenge during early development of zebrafish[J]. *Fish Physiol Biochem*, 2014, 40(6): 1877–1886.
- [74] Korajoki H, Vornanen M. Temperature dependence of sarco (endo) plasmic reticulum Ca^{2+} ATPase expression in fish hearts[J]. *J Comp Physiol B*, 2013, 183(4): 467–476.
- [75] Fan L, Wang A, Miao Y, et al. Comparative proteomic identification of the hepatopancreas response to cold stress in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture*, 2016, 454: 27–34.
- [76] Zhao Q, Pan L, Ren Q, et al. Identification of genes differentially expressed in swimming crab *Portunus trituberculatus* response to low temperature[J]. *Aquaculture*, 2015, 442: 21–28.
- [77] Hurst T P. Causes and consequences of winter mortality in fishes[J]. *J Fish Biol*, 2007, 71(2): 315–345.
- [78] Fetzer W W, Brooking T E, Jackson J R, et al. Overwinter mortality of gizzard shad: Evaluation of starvation and cold temperature stress[J]. *Trans Am Fish Soc*, 2011, 140(6): 1460–1471.
- [79] Chang Y M, Sun X W, Liang L Q. Study on cold tolerant traits for common carp *Cyprinus carpio*[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2003, 12(2): 102–105. [常玉梅, 孙效文, 梁利群. 鲤鱼耐寒性状研究[J]. 上海水产大学学报, 2003, 12(2): 102–105.]
- [80] Liang L Q, Li S W, Chang Y M, et al. Application of suppression subtractive hybridization (SSH) to study of cold tolerance in common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Journal of*

- Fishery Sciences of China, 2006, 13(2): 193–199. [梁利群, 李绍戊, 常玉梅, 等. 抑制消减杂交技术在鲤鱼抗寒研究中的应用[J]. 中国水产科学, 2006, 13(2): 193–199.]
- [81] 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]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(48): 16970–16975.
- [82] Chen Z, Cheng C H C, Zhang J, et al. Transcriptomic and genomic evolution under constant cold in Antarctic notothenioid fish[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(35): 12944–12949.
- [83] Yang F Q, Qian L J, Wang W Y, et al. Differentially expressed genes associated with cold acclimation[J]. Acta Physiological Sinica, 2003, 55(3): 360–363. [杨发青, 钱令嘉, 王万银, 等. 寒冷适应差异表达基因的研究[J]. 生理学报, 2003, 55(3): 360–363.]
- [84] Sakurai T, Itoh K, Liu Y, et al. Low temperature protects mammalian cells from apoptosis initiated by various stimuli *in vitro*[J]. Exp Cell Res, 2005, 309(2): 264–272.
- [85] Tseng Y C, Chen R D, Lucassen M, et al. Exploring uncoupling proteins and antioxidant mechanisms under acute cold exposure in brains of fish[J]. PLoS One, 2011, 6(3): e18180.
- [86] Xu L H, Chang Y M, Liu C L, et al. Screening cold-acclimation differential expression candidate genes in the brain of common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Hereditas, 2011, 33(3): 262–269. [徐丽华, 常玉梅, 刘春雷, 等. 鲤脑组织低温差异表达候选基因的筛选[J]. 遗传, 2011, 33(3): 262–269.]
- [87] Wang M Q. Fish disease cauded by cold and its prevent strategy[J]. China Fisheries, 2009(2): 55–56. [汪卯全. 低温冰冻引起的鱼类病害及对策[J]. 中国水产, 2009(2): 55–56.]
- [88] Chen Z, Tang Z S, Lin Y, et al. Breeding of cold-resistance Egyptian strain of *Oreochromis niloticus* in 3 generations[J]. Journal of Guangxi Normal University: Natural Science Edition, 2012, 30(2): 117–122. [陈忠, 唐章生, 林勇, 等. 埃及品系尼罗罗非鱼三个世代耐寒性能的选育[J]. 广西师范大学学报: 自然科学版, 2012, 30(2): 117–122.]
- [89] Lin Y, Lu Q X, Yang H Z, et al. Analysis of cold hardy capacity in eight strains tilapia and their hybridizations[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2011, 26(S1): 278–282. [林勇, 卢其西, 杨慧赞, 等. 八种品系罗非鱼及其尼罗罗非鱼耐寒性能的比较试验[J]. 华北农学报, 2011, 26(S1): 278–282.]
- [90] Lu Q X. Assessment the cold tolerance of *Oreochromis aureus* and the efficacy of low temperature breeding[D]. Nanning: Guangxi Normal University, 2012. [卢其西. 奥利亚罗非鱼耐寒性能评价及低温选育效果研究[D]. 南宁: 广西师范大学, 2012.]
- [91] Hew C L, Davies P L, Fletcher G. Antifreeze protein gene transfer in Atlantic salmon[J]. Mol Mar Biol Biotechnol, 1991, 1(4–5): 309–317.
- [92] Yang X J. Cloning of antifreeze protein gene and its integration in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)[D]. Wuhan: Central China Normal University, 2004. [杨晓菁. 抗冻蛋白基因的克隆及其在罗氏沼虾中的整合[D]. 武汉: 华中师范大学, 2004.]
- [93] Charo-Karisa H, Rezk M A, Bovenhuis H, et al. Effects of rearing conditions on low-temperature tolerance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* juveniles[C]//New Dimensions in Farmed Tilapia. Proceedings of the 6th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Manila. 2004: 30–41.
- [94] Huang J F, Xu Q Y, Chang Y M. Effects of temperature and dietary protein on the growth performance and IGF-I mRNA expression of juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Aquac Nutr, 2016, 22(2): 283–292.
- [95] Craig S R, Neill W H, Gatlin III D M. Effects of dietary lipid and environmental salinity on growth, body composition, and cold tolerance of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*)[J]. Fish Physiol Biochem, 1995, 14(1): 49–61.
- [96] Chen B, Niu C, Yuan L. Ascorbic acid regulation in stress responses during acute cold exposure and following recovery in juvenile Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*)[J]. Comp Biochem Physiol A: Mol Integr Physiol, 2015, 184: 20–26.
- [97] Xu Y Q, Li W F, Ding Z K. Synergism of glutamine and vitamin E on animals: Effects and mechanisms[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2013, 25(8): 1671–1676. [许友卿, 李伟峰, 丁兆坤. 谷氨酰胺和维生素 E 协同对机体的影响及机理[J]. 动物营养学报, 2013, 25(8): 1671–1676.]
- [98] Ye C X, Wan F, Sun Z Z, et al. Effect of phosphorus supplementation on cell viability, anti-oxidative capacity and comparative proteomic profiles of puffer fish (*Takifugu obscurus*) under low temperature stress[J]. Aquaculture, 2016, 452: 200–208.

Research progress on the effects, mechanisms, and control of cold stress in aquatic animals

XU Youqing, ZHENG Yimin, DING Zhaokun

Institute for Fishery Sciences, Key Laboratory for Aquaculture and Nutritional Control of Guangxi High Education, Guangxi University, Nanning 530004, China

Abstract: Cold stress can cause metabolic disorders or death in aquatic organisms through severe effects on physiological and biochemical processes. The present paper reviewed the effects, mechanism, and control of the mechanisms of cold-stress effects and control of energy, protein, fat, and nucleic-acid metabolism in aquatic animals, especially in fish, with the ultimate goal of reducing or preventing cold-stress related damage. Future studies should investigate these questions in a multidisciplinary fashion, incorporating molecular techniques to understand cold-stress effects on the molecular, cellular, and tissue levels. Multiple measures are necessary to develop sustainable, lower-risk fisheries, including the improvement of environmental conditions, genetic engineering and breeding cold-resistant species, along with increasing cold-stress resistance through dietary (supplementation of proteins, polyunsaturated fatty acids, trace elements, and other nutrients).

Key words: cold stress; fish metabolism; physiological control; aquatic organisms

Corresponding author: DING Zhaokun. E-mail: zhaokun.ding@hotmail.com