

镜泊湖草鱼与市售草鱼形态特征及风味物质合成关键基因的分析

李昌博^{1,2,3}, 相海峽¹, 潘德胤^{1,2,3}, 马可心^{1,3}, 于潇^{1,3}, 刁静静¹, 陈洪生^{1,2,3*}, 夏秀芳^{4*}

(1. 黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江大庆 163319) (2. 黑龙江八一农垦大学牡丹江食品与生物技术创新研究院, 黑龙江牡丹江 157000) (3. 黑龙江省食品与生物技术创新研究中心(国际合作), 黑龙江大庆 163319) (4. 东北农业大学食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘要: 为了深度挖掘牡丹江地区特有水产种质资源优势, 该研究旨在比较镜泊湖野生草鱼与市售养殖草鱼在形态和风味关键基因上的差异。选择体质量无显著差异的两种草鱼, 进行形态特征测量并对其背部肌肉取样进行转录组测序分析。研究结果显示, 与市售草鱼相比, 镜泊湖草鱼体型更加修长, 脏体比为 7.68% 显著低于市售草鱼 ($P<0.01$)、空壳率为 92.32% 显著高于市售草鱼 ($P<0.05$)。转录组测序共获得 40.38 Gb 过滤数据, 两种鱼共有 1 587 个差异基因, 其中上调表达 527 个、下调表达 1 060 个, 样本间相似性较高。KEGG 富集分析共涉及 183 条信号通路, 对风味相关的调控基因进行筛选, 发现基因 *AK4*、*AMPD1* 在肌苷酸 (IMP) 的合成中具有重要作用; *FASN*、*LPL*、*PLIN2*、*ACOX1*、*FABP1a* 参与调控肌内脂肪 (IMF) 的积累; *BCAT1*、*BCAT2*、*DDO* 对风味氨基酸的生成起关键作用。综上, 镜泊湖草鱼可食用部分更多、腹部脂肪蓄积少, 相关基因表达量的变化对风味物质的合成有一定影响。研究可为牡丹江地区火山堰塞湖水系草鱼资源的开发和应用, 提供一定的理论依据。

关键词: 镜泊湖; 草鱼; 形态特征; 转录组; 风味

文章编号: 1673-9078(2025)09-350-359

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.9.1012

Morphological Characteristics and Key Genes for Flavor Substance Synthesis in Wild Grass Carp from Jingpo Lake and Commercial Grass Carp

LI Changbo^{1,2,3}, XIANG Haiqiao¹, PAN Deyin^{1,2,3}, MA Kexin^{1,3},
YU Xiao^{1,3}, DIAO Jingjing¹, CHEN Hongsheng^{1,2,3*}, XIA Xiufang^{4*}

(1. College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

(2. Heilongjiang Bayi Agricultural University Mudanjiang Institute of Food and Biotechnology, Mudanjiang 157000, China)

引文格式:

李昌博, 相海峽, 潘德胤, 等. 镜泊湖草鱼与市售草鱼形态特征及风味物质合成关键基因的分析[J]. 现代食品科技, 2025, 41(9): 350-359.

LI Changbo, XIANG Haiqiao, PAN Deyin, et al. Morphological characteristics and key genes for flavor substance synthesis in wild grass carp from Jingpo Lake and commercial grass carp [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(9): 350-359.

收稿日期: 2024-07-16; 修回日期: 2024-09-15; 接受日期: 2024-09-26

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目 (SS2022C002)

作者简介: 李昌博 (1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学, E-mail: 524623016@qq.com

通讯作者: 陈洪生 (1979-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 动物源食品加工, E-mail: hsch0608@163.com; 共同通讯作者: 夏秀芳 (1973-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 动物源食品加工, E-mail: Xxfang524@163.com

(3.Heilongjiang Food and Biotechnology Innovation and Research Center (International Cooperation), Daqing 163319, China.) (4.College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The differences in morphological characteristics and key genes related to flavor between wild grass carp from Jingpo Lake and commercially farmed grass carp were investigated to explore the unique aquatic germplasm resources in the Mudanjiang region. Grass carp with similar body weight were selected for morphological measurements, and their dorsal muscles were sampled for transcriptome sequencing analysis. The results showed that wild grass carp from Jingpo Lake had a more elongated body shape, a significantly lower viscerosomatic index of 7.68% ($P<0.01$), and a significantly higher dressed carcass ratio of 92.32% ($P<0.05$) than commercial grass carp. Transcriptome sequencing yielded 40.38 Gb of filtered data, revealing 1587 differentially expressed genes, including 527 upregulated and 1060 downregulated genes. These demonstrated high similarity between samples. According to Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis, 183 signaling pathways were identified. Further investigation was performed on flavor-related regulatory genes. Genes *AK4* and *AMPD1* played important roles in inosine monophosphate (IMP) synthesis; *FASN*, *LPL*, *PLIN2*, *ACOX1*, and *FABP1a* were involved in regulating intramuscular fat (IMF) accumulation; and *BCAT1*, *BCAT2*, and *DDO* were suggested to be key to the synthesis of flavor amino acids. In summary, wild grass carp from Jingpo Lake have a greater edible yield and less abdominal fat accumulation, attributed primarily to the expression of flavor-related genes that contribute to their unique flavor. This study provides a theoretical basis for developing and applying grass carp resources in the volcanic barrier lake system of the Mudanjiang region.

Key words: Jingpo Lake; grass carp; morphological characteristics; transcriptome; flavor

镜泊湖是中国最大的火山堰塞湖，位于黑龙江省牡丹江市，湖水平均深度为 40 m。独特的自然环境孕育了丰富的鱼类资源，据报道湖中共有 63 种鱼类，以鲤科为主^[1-3]。草鱼（*Ctenopharyngodon idella*）是我国主要的养殖对象，年产量达到 550 万 t^[4]。市售草鱼多为人工养殖草鱼，其品质受多方面的影响，较差的养殖环境会造成鱼体不良味道的积累，从而影响消费者的接受度^[5]。镜泊湖草鱼是生活在火山堰塞湖中的野生草鱼，天然的生长环境、多样的食物来源，使得镜泊湖草鱼的口感更加鲜美，风味独特。

为研究镜泊湖与市售草鱼风味品质的区别，课题组前期已对挥发性成分、游离氨基酸、ATP 关联产物等进行研究发现^[6]，镜泊湖草鱼共检测出 83 种挥发性成分，相较市售草鱼多出 30 种，其中醇、醛、酯、醚总含量均显著高于市售草鱼。镜泊湖草鱼氨基酸总量相较市售草鱼显著高出 4.28 g/100 g。Asp、Glu 与 ADP、AMP、IMP 作为呈现鲜味的原因，整体含量均高于市售草鱼，这与电子舌对鲜味检测结果一致。研究表明镜泊湖草鱼味道鲜美土腥味少，具有更好的风味，这可能是由于环境的差异引起的基因表达不同，基于此本文对两种草鱼形态特征及在基因层面的差异进行比较。

转录组测序（RNA Sequencing, RNA-Seq）作为筛选差异表达基因（Differentially Expressed Genes,

DEGs）的方法，被广泛用于食品行业。养殖环境在一定程度上会影响风味的优劣^[7]。Du 等^[8]通过转录组研究发现，采用短时微流水净化系统（Short Term Micro-flowing Water System, STMFPS）养殖的鲫鱼，鸟氨酸氧氨基转移酶基因表达下调，精氨酸琥珀酸合成酶、裂解酶基因表达上调，此外鸟氨酸合成相关的 4 个催化基因均上调表达，导致鸟氨酸和精胺氨基琥珀酸的含量显著增加，从而影响了鱼肉的品质。Zhao 等^[9]发现喂养人工饲料和草料的草鱼中，喂养草料的样品中 *ACSL1*、*ACADS*、*ppara* 基因表达量上调，导致细胞甘油三酯和脂滴形成减少，进而减少脂肪沉积，改善肌肉营养成分、风味和质地，最终获得品质更好的草鱼。Du 等^[10]发现，与淡水池塘养殖相比海水养殖的鲈鱼，*ADSL* 基因表达量显著上调，*ADSL* 通过靶向 IMP 合成，显著提高鲈鱼肌肉中呈味核苷酸 IMP 的含量，从而使海水养殖的鲈鱼风味更加独特。

综上，本试验基于课题组前期对两种鱼风味差异的研究结果，进一步探讨了二者在形态特征，以及影响风味的关键基因上的差异，试验首先通过测定两种鱼的体长、肥满度、空壳率等形态特征指标，阐释二者的形态差异。而后，通过分析前期的风味差异数据，进一步采用转录组学技术进行分析，旨在探究调控风味含量的候选基因，为今后镜泊湖火山堰塞湖水系鱼类开发提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

镜泊湖草鱼：黑龙江省牡丹江市水域合法捕捞的野生草鱼（湖水温度、氨氮含量分别保持在14~18℃，0~0.3 mg/L）；市售草鱼：同一地区，相同时期捕捞的人工养殖草鱼（养殖池塘面积10亩，池内平均水深2 m，草鱼养殖密度70尾/亩），投喂商品饲料（粗蛋白质≥26%；粗脂肪≥2%；粗纤维≤15%；粗灰分≤15%），水质条件按《地表水环境质量标准》（GB3838-2002）执行。统一采集草鱼质量为（1 750±150 g），组间差异不显著（ $P > 0.05$ ）。TRIzol 试剂盒，美国 Invitrogen 公司；RNA 纯化试剂盒，上海美吉生物医药科技有限公司；琼脂糖，西班牙 Biowest 公司；NovaSeq 试剂盒，美国 illumina 公司。

1.2 仪器与设备

TL-48R 粉碎研磨仪，上海万柏生物科技有限公司；Eppendorf 5424R 离心机，德国 Eppendorf 公司；DYY-6C 电泳仪，北京市六一仪器厂；NanoDrop 2000 分光光度计，美国 Invitrogen 公司；Agilent 5300 生物分析仪，美国 Agilent 公司；Qubit 4.0 荧光定量仪，美国 thermofisher 公司；T100 Thermal Cycler PCR 仪，美国 BIO-RAD 公司；NovaSeq 6000 测序仪，美国 illumina 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 样本采集

两组草鱼各选取18尾，对其形态特征进行测量，将鱼物理击晕后，称重后剖取鱼腹内部脏团、肝脏等进行称重记录。转录组测序中，每组样本进行三个生物学重复，将鱼击晕后去皮，采集背部两侧白色肌肉约5 g，贮藏于无酶冻存管中，迅速置于液氮中进行速冻，随后在-80℃保存用于提取RNA和转录组测序。转录组分析中市售草鱼组样本记为（CGC1、CGC2、CGC3），镜泊湖草鱼组样本记为（JPGC1、JPGC2、JPGC3）。

1.3.2 形态特征的测定

参照 Jia 等^[1]方法略作修改。如图1所示，测量以下形态参数：总长度（Length, L）、体长（Body Length, BL）、躯干长度（Trunk Length, TL）、头长（Head Length, HL）、吻长（Long Kiss, SNL）、眼径

（Eye Diameter, OD）、尾梗长度（Caudal Peduncle Length, CPL）、尾梗高度（Caudal Peduncle Height, CPD）和体高（Body Height, BD）。并计算其肥满度、空壳率、脏体比、肝体比，公式如下：

$$B_1 = \frac{W_1}{L^3} \times 100 \quad (1)$$

$$B_2 = \frac{W_1 - W_2}{W_2} \times 100\% \quad (2)$$

$$B_3 = \frac{W_2}{W_1} \times 100\% \quad (3)$$

$$B_4 = \frac{W_3}{W_1} \times 100\% \quad (4)$$

式中：

B_1 ——肥满度（CF），g/cm³；

W_1 ——鱼湿体质量，g；

L^3 ——鱼体积，cm³；

B_2 ——空壳率（DOR），%；

W_2 ——内脏质量，g；

B_3 ——脏体比（VI），%；

B_4 ——肝体比（HI），%；

W_3 ——肝脏质量，g。

1.3.3 RNA提取、文库构建和Illumina测序

选用 TRIzol 试剂盒进行提取。取草鱼背肌放入液氮中充分研磨，放入预冷离心管中，振荡裂解；离心5 min（4℃，13 000 g），取上层液与氯仿按比例混合；离心15 min（4℃，13 000 g），取上液加入等量异丙醇静置；同条件下离心10 min，弃上清，加1 mL 预冷 $\phi=75\%$ 乙醇后离心5 min（4℃，12 000 g）后弃上清，用0.1%的超纯水溶解。检测RNA浓度、纯度和完整性，筛选满足条件的样本。利用Oligo磁珠分离mRNA，进行片段化处理，逆转录酶合成cDNA并构建文库。文库在Illumina NovaSeq 6000 平台测序。

1.3.4 测序数据的统计、质量控制与参考基因组比对

使用 Fastp (<https://github.com/OpenGene/fastp>) 对测序结果进行质量评估、过滤。去除接头序列、低质量和过短数据等。计算Q20、Q30和GC含量。随后采用软件HiSat2 (<http://ccb.jhu.edu/software/hisat2/index.shtml>)，对过滤数据与草鱼参考基因组 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Ctenopharyngodon_idellus) 进行比较，用于后续转录本组装、表达量计算。

表 1 qPCR引物序列
Table 1 qPCR primer sequence

基因 ID	基因名称	正向引物 (5'-3')	反向引物 (5'-3')
ID:127513804	<i>ACOX1</i>	GGTGCAGAAAAGACACGCAG	GGGCTCTTGATACACACCCCT
ID:127513993	<i>AK4</i>	ACAGTACTCTGTTGGGGCAG	GAAACTGTGCGCGATCCTCT
ID:127499200	<i>DDO</i>	CGGCGAGGTGATTACGACTATT	AACACCACTACGAGGCAACA
ID:127520834	<i>LPL</i>	CAAAATTCGCACACGCAGGA	CTTTATGGGCTGGTCGGGTGT
ID:127495279	<i>PLIN2</i>	CGCATGAATTTCAGTACACGA	ACTTCCTGCTTTGCTGACCT
ID:127508367	<i>β-actin</i>	CGTGACATCAAGGAGAAG	GAGTTGAAGGTGGTCTCAT

1.3.5 差异表达基因的筛选

以 $P\text{-Value} < 0.05$ 、 $|\log_2(\text{Fold Change})| > 1$ (Fold Change 表示差异倍数) 作为条件, 筛选差异表达基因。利用上海美吉生物云平台 (<https://cloud.majorbio.com/>) 将筛选后得到的 DEGs 绘制盒形图, 聚类热图, 及火山图。

1.3.6 基因注释分析

利用基因本体功能数据库 (Gene Ontology, GO, <http://geneontology.org/>) 和京都基因与基因组百科全书数据库 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG, <https://www.genome.jp/kegg/>) 对本次实验的 DEGs 功能与通路进行注释并进行分类分析。

1.3.7 KEGG通路富集分析

采用软件包 Python scipy (<https://scipy.org/install/>) 进行富集分析, 利用 Benjamini & Hochberg 法 (BH 法) 控制错误发现率, 对其进行多重检验, 与全部基因组相比, 以筛选出影响风味的相关富集基因。结合相关文献分析, 以确定差异基因所发挥的主要生物学功能。

1.3.8 RT-qPCR验证

为验证转录组测序结果, 采用 RT-qPCR 对 DEGs 进行验证。使用测序同批次的 RNA 样本, 采用 *β-actin* 基因作为内部参考基因。利用 Primer 6.0 进行 DEGs 的引物设计, 列于表 1 中。扩增程序为先 94 °C 反应 2 min 进行预变性, 再 94 °C 反应 5 s 到 60 °C 反应 30 s 进行 45 次循环。使用 ABI QuantStudio 1 PCR 仪对其进行实时荧光定量 PCR 分析, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算目标 DEGs 的相对表达量。

1.4 数据处理

使用 SPSS 27.0 进行独立样本 t 检验, 结果用平均值 ± 标准差表示, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

表 2 镜泊湖草鱼与市售草鱼形态特征比较
Table 2 Comparison of morphological characteristics between Jingpo Lake grass carp and commercial grass carp

指标	市售草鱼	镜泊湖草鱼
总长度/cm	47.77 ± 1.61	52.55 ± 0.26*
体长/cm	40.49 ± 1.11	48.13 ± 0.61**
躯干长度/cm	23.76 ± 1.66	25.98 ± 1.07
头长/cm	9.03 ± 1.66	9.28 ± 0.47
吻长/cm	2.57 ± 0.22	3.19 ± 0.08**
眼径/cm	1.34 ± 0.09	1.51 ± 0.10
尾梗长度/cm	5.43 ± 0.27	7.63 ± 0.32**
尾梗高度/cm	5.48 ± 0.15	5.79 ± 0.16
体高/cm	9.70 ± 0.44*	8.40 ± 0.19
湿体质量/g	1 841.33 ± 28.45	1 875.00 ± 9.64
脏体比/%	10.66 ± 0.53**	7.68 ± 0.28
肝体比/%	2.24 ± 0.22	2.17 ± 0.06
肥满度/(g/cm³)	1.64 ± 0.22	1.29 ± 0.02
空壳率/%	89.34 ± 0.53	92.32 ± 0.28**

注: * 表示显著差异 ($P < 0.05$), ** 表示极显著差异 ($P < 0.01$)。

2 结果与分析

2.1 镜泊湖草鱼与市售草鱼形态特征比较

形态特征是评价其营养状况、生长状况和商品经济价值的重要指标, 形态特征受到基因和环境的影响, 体现了生物进化的特性^[12-14]。结果指出, 镜泊湖草鱼与市售草鱼之间, 体长、吻长、尾梗长度、空壳率、总长度、鱼体高度和脏体比存在显著差异。如表 2 的形态特征所示, 镜泊湖草鱼的总长度 52.55 cm 显著大于市售草鱼 ($P < 0.05$), 体长 48.13 cm、吻长 3.19 cm、尾梗长度 7.63 cm、空壳率为 92.32% 极显著大于市售草鱼 ($P < 0.01$); 鱼体高度 8.40 cm 显著小于市售草鱼 ($P < 0.05$),

脏体比为 7.68% 极显著小于市售草鱼 ($P<0.01$)。赵旺等^[15]对陆基与离岸养殖的尖吻鲈鱼形态特征进行研究,发现在不同生长模式下的尖吻鲈鱼体型存在明显差异。镜泊湖草鱼的脏体比显著低于市售草鱼,肝体比虽无显著差异但也低于市售组,分析原因可能由于镜泊湖草鱼活动相对剧烈,鱼体会消耗肝脏周围的营养物质导致的^[16,17]。肝体比和脏体比是评价鱼类健康的重要指标,鱼类的肝体比一般在 1%~2% 左右^[18,19]。原居林等^[20]对池塘内循环养殖与传统养殖的大口黑鲈进行检测,结果表明池塘内循环养殖模式下,鱼体肥满度、肝体比、脏体比均显著低于传统养殖的黑鲈。镜泊湖草鱼体长、空壳率相比较市售草鱼分别增加 7.64 cm、2.98%、体高减小 1.3 cm。这表明镜泊湖草鱼的形态特征与市售草鱼具有显著差异,镜泊湖草鱼鱼体更加纤细,可食净重更高,肥满度与空壳率可说明鱼类生理和营养状况与鱼肉的可食用占比。结合图 2 可看出镜泊湖草鱼体型修长、鱼肉产量较高,这可能由于镜泊湖草鱼在流动水环境生长,为了适应生长环境,减少水流对个体的能量消耗,草鱼外观便更加趋向于流线型。

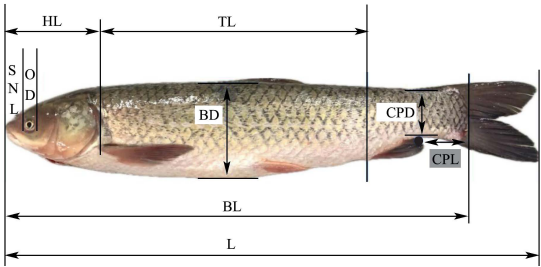


图 1 草鱼形态特征测定示意图

Fig.1 Schematic diagram for the determination of morphological characteristics of grass carp



图 2 草鱼形态特征对比图

Fig.2 Comparison of morphological characteristics of grass carp

注: (a) 市售草鱼; (b) 镜泊湖草鱼。

表 3 镜泊湖草鱼与市售草鱼测序数据统计

Table 3 Sequencing data of Jingpo Lake grass carp and commercial grass carp						
样本名称	原始下机序列数	高质量序列数	碱基错误率 /%	Q20 /%	Q30 /%	GC 相对含量 /%
CGC1	46 737 594	46 110 084	0.025 4	97.38	95.14	50.13
CGC2	43 806 248	43 282 942	0.025 3	97.41	95.15	49.63
CGC3	46 194 092	45 723 814	0.025 1	97.51	95.4	49.6
JPGC1	48 265 768	47 576 086	0.025 4	97.38	95.13	50.14
JPGC2	46 061 834	45 455 364	0.025 4	97.40	95.14	50.23
JPGC3	47 445 380	46 906 468	0.025 3	97.42	95.23	49.31

表 4 镜泊湖草鱼与市售草鱼测序数据与基因组序列比对结果统计

Table 4 Sequencing data and genome sequence comparison results of Jingpo Lake grass carp and commercial grass carp			
样本名称	基因组对比值 /%	比对到基因组单点位序列数 /%	比对到基因组多点位序列数 /%
CGC1	44 422 548 (96.34%)	37 030 152 (80.31%)	7 392 396 (16.03%)
CGC2	41 780 326 (96.53%)	36 915 508 (85.29%)	4 864 818 (11.24%)
CGC3	44 088 713 (96.42%)	37 872 980 (82.83%)	6 215 733 (13.59%)
JPGC1	46 054 542 (96.8%)	39 659 094 (83.36%)	6 395 448 (13.44%)
JPGC2	43 950 923 (96.69%)	39 299 738 (86.46%)	4 651 185 (10.23%)
JPGC3	45 277 205 (96.53%)	34 543 513 (73.64%)	10 733 692 (22.88%)

2.2 转录组测序数据分析

测序结果共获得 40.38 Gb 过滤数据，各样品过滤数据均达到 6.34 Gb 以上。如表 3 所示，Q20 和 Q30 碱基百分比分别在 97.38% 和 95.13% 以上。样品中 Q30 值最低为 95.13%，最高为 95.4%，全部达到 90% 以上，说明测序质量具有较高的可靠性。两个样品组 GC 碱基含量占总碱基平均百分比为：市售草鱼组 49.79%、镜泊湖草鱼组 49.89%。除去低质量的原始序列后，每个样本的高质量序列数分别为 46 110 084、43 282 942、45 723 814、47 576 086、45 455 364 和 46 906 468。样本平均错误率均在 0.1% 以下。

将获取的高质量序列与草鱼的参考基因组进行比较分析，比对率为 96.34%~96.8%。多次注释的比对率为 10.23%~22.88%，单次注释的比对率为 73.64%~86.46%。说明各组数据比对效率相对较高，表明样本的外源污染较少，参考基因组组装质量较好，样本整体测序数据量丰富，测序结果可信。

2.3 差异表达基因分析

由图 3a 可知基因表达值分布的对比情况，可看出市售草鱼和镜泊湖草鱼 DEGs 的表达模式相似。图 3b 主成分分析结果表明，主成分 1（PC1）和主成分 2（PC2）分别为 42.62% 和 28.04%。2 个样本组之间的距离比较分散，但组内样本距离相近，表明样本间相似性较高。图 3c 基因表达聚类情况可看出，两组之间的基因表达模式呈现相反的模式并存在显著差异。以 $P<0.05$ 作为筛选标准，差异表达基因如图 3d 所示，共检测到表达基因共 24 278 个，其中已知基因 24 122 个，发现新基因 156 个，新基因将进一步丰富原有的草鱼基因组数据。与市售草鱼相比，镜泊湖草鱼共有 1 587 个基因在肌肉组织中差异表达，其中上调基因 527 个，下调基因 1 060 个，差异基因的研究将有助于揭示草鱼在不同环境中的分子作用机制。

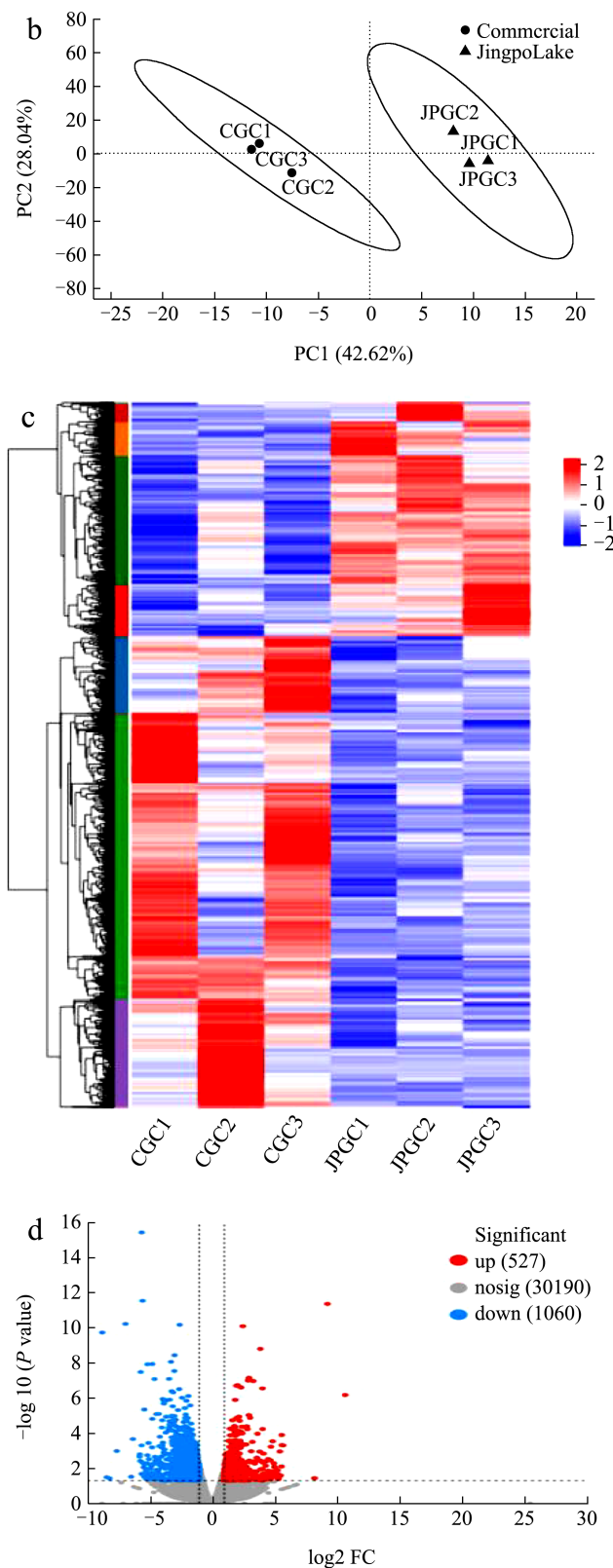
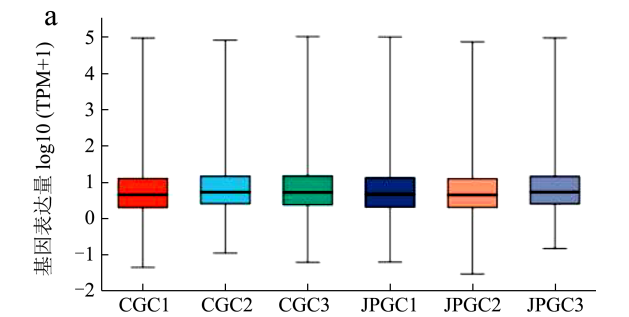


图 3 镜泊湖草鱼与市售草鱼差异表达基因的影响

Fig.3 Effects of differentially expressed genes in Jingpo Lake grass carp and commercial grass carp

注：(a) 基因表达量分布盒形图；(b) 样本间 PCA 图；(c) 差异表达基因聚类热图；(d) 差异表达基因火山图。

2.4 GO与KEGG功能注释和分类

为探究二者相关基因的生物学过程与重要功能分类，该研究对 DEGs 进行了 GO 注释分析。GO 注释的三个主要功能组分别为生物学过程、细胞组分、分子功能^[21]，在上述分析中，1 587 个 DEGs 成功地注释到 45 个子项中。生物学过程注释到 44.4% 的条目占比最大，其中“细胞过程”、“生物调节”和“代谢过程”在生物学过程中被显著富集；细胞组分注释到 28.8% 的条目，并且注释到的基因数目最多，“细胞部分”、“细胞器”和“膜部分”在细胞组分中显著富集；分子功能注释到 26.6% 的条目，“结合”、“催化活性”和“转录调节剂活性”是分子功能中的关键条目。综上所述，两种草鱼的 DEGs 被注释到生物学过程的占比最大，其中代谢过程内相关基因可能对风味的合成起着重要作用。

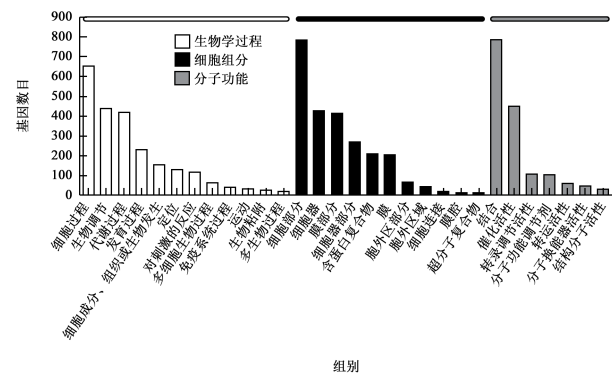


图 4 差异表达基因 GO 功能注释图

Fig.4 Functional annotation map of GO for differentially expressed genes

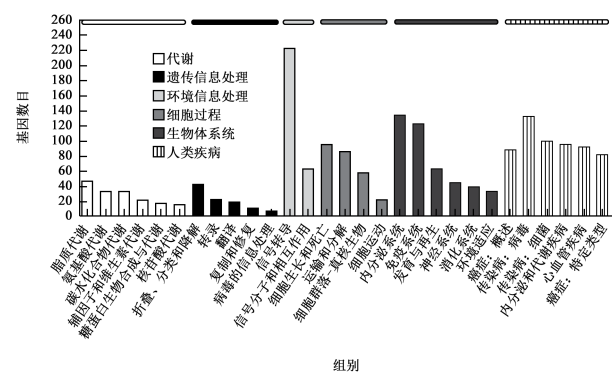


图 5 差异表达基因 KEGG 功能注释图

Fig.5 Functional annotation map of KEGG for differentially expressed genes

由图 5KEGG 注释分析可知，差异基因被注释到 333 个二级通路中。这些通路分为 6 大类：代谢、

遗传信息处理、环境信息处理、细胞过程、生物体系统、人类疾病。人类疾病中共注释到 95 条相关途径，共 169 个基因与“癌症：概述”相关；88 条相关途径注释在生物体系统中，其中 134 个基因与“内分泌系统”相关；代谢通路中共注释到 71 条相关途径，上调基因共注释到 104 个，下调基因共注释到 187 个，DEGs 主要被注释到“脂质代谢”、“氨基酸代谢”、“碳水化合物代谢”中，注释到的基因数分别为 47、34、34。环境信息处理共注释到 35 条相关途径，其中“信号转导”注释到 222 个基因；细胞过程与遗传信息处理均注释到 22 条相关途径，主要注释条目为“细胞生长和死亡”、“折叠、分类和降解”。

2.5 KEGG通路富集分析

为进一步探究镜泊湖草鱼与市售草鱼差异基因主要的生物学功能，筛选出与风味物质合成相关的基因，对差异基因进行 KEGG 富集分析。在生物体中，不同的基因协调相应的生物学功能，通过 KEGG 富集分析可以明确 DEGs 参与的主要的信号转导途径。两组间的富集分析结果如图 6 所示，共涉及 183 个信号通路。与风味物质合成相关的 KEGG 通路为，半胱氨酸和蛋氨酸代谢富集 10 个 DEGs、PPAR 信号通路富集 12 个 DEGs、赖氨酸降解富集 9 个 DEGs、嘌呤代谢富集 12 个 DEGs、精氨酸和脯氨酸代谢富集 8 个 DEGs。可以看出两个处理组在 PPAR 信号通路与嘌呤代谢通路富集到的 DEGs 最多，其中 PPAR 信号通路内 11 个 DEGs 下调表达，嘌呤代谢通路内共有 6 个 DEGs 上调表达。

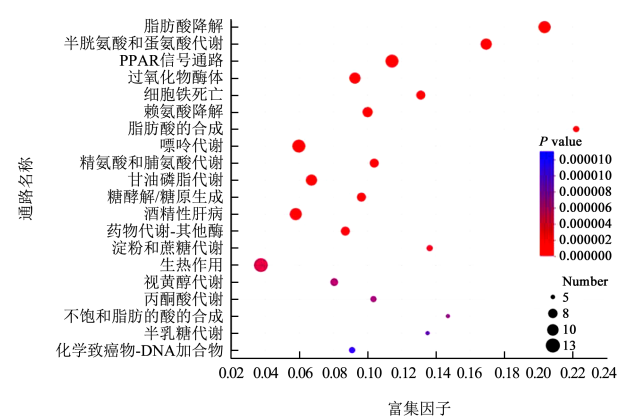


图 6 差异表达基因 KEGG 通路富集气泡图

Fig.6 Enrichment bubble map of KEGG pathway for differentially expressed genes

2.6 风味物质合成关键基因筛选

综合上述测序结果，进一步筛选相关表达基因，结合文献最终确定 10 个关键基因（表 5），可能参与草鱼风味形成的过程与 ATP 关联产物、肌内脂肪含量、呈味氨基酸的合成密切相关，其中 6 个基因表达上调。腺苷酸激酶 4（AK4）、单磷酸腺苷脱氨酶 1（AMPD1）参与肌苷酸（IMP）形成，这些基因的表达对 ATP 相关产物的合成具有积极影响^[22]；脂肪酸合成酶（FASN）、脂蛋白脂酶（LPL）、围脂滴蛋白 2（PLIN2）、酰基-CoA 氧化酶 1（ACOX1）、脂肪酸结合蛋白 1a（FABP1a）它们对肌内脂肪（IMF）的合成和分解代谢起着重要作用^[23-27]；支链氨基酸转氨酶（BCAT1、BCAT2）、d-天冬氨酸氧化酶（DDO）分别影响 Glu 与 Asp 鲜味氨基酸的形成^[28-30]。这些基因的差异表达，可能是影响镜泊湖草鱼风味品质的关键所在。

课题组前期研究发现，镜泊湖草鱼与市售草鱼在肌肉品质和风味方面具有明显的区别。镜泊湖草鱼肉质更加紧实、脂肪含量更低；对挥发性风味成分检测发现，市售草鱼中检测到 1.39 μg/kg 的 1-壬醇，具有灰尘和油腻气味，而镜泊湖草鱼鱼背中未检出；1-壬醛、异戊醛分别比市售草鱼高出 2.46、1.9 μg/kg，它们具有柑橘绿色香气与桃子般的味道；2-甲基丁酸乙酯仅在镜泊湖草鱼中检出具有类似苹果的香气；Asp 与 Glu 作为鲜味氨基酸主要提供鲜味，二者的含量为 5.69 g/100 g、7.53 g/100 g 显著高出市售草鱼 0.54 g/100 g、0.76 g/100 g；对 ATP 相关化合物检测中发现，ATP、ADP、AMP、IMP 含量均高于市售草鱼 6.51、34.01、27.13、14.47 mg/kg^[6]。IMP 作为一种鲜味剂，可与 Glu 协同作用产生强烈的鲜味^[31]。

它们对草鱼的味道有积极的影响，这可能是镜泊湖草鱼风味更加鲜美的主要原因。不同的养殖模式导致生长环境发生的改变，会进一步影响它们本身的形态特征、新陈代谢能力、营养和风味品质^[32]。目前影响镜泊湖草鱼风味的差异基因尚未得知，因此采用转录组测序技术对影响风味的差异表达基因进行分析讨论。

嘌呤代谢通路指导 ATP 相关化合物的合成和降解，共有 12 个 DEGs 被显著富集，它们是影响鱼肉鲜味形成关键因素。AMP 和 IMP 是对鱼类鲜味贡献最大的核苷酸，两者在增强鲜味方面具有协同作用。由 ADP 分解生成 AMP、AMP 由脱氢酶作用

生成 IMP 的过程中，途径内的差异基因均上调表达。腺苷酸激酶（AK4）作为 ADP 到 AMP 的关键基因表达量显著上调；AMPD 是嘌呤核苷酸降解反应中的重要酶，催化单磷酸腺苷脱氨基为单磷酸肌苷，AMPD1 在通路中表达上调，对 IMP 的合成起着正向调控，对鱼类鲜味的提升有重要作用^[22]。Zhou 等^[33]在对鲫鱼肌肉组织研究中发现，AMPD1 通过信号通路介导谷氨酸调节可以诱导鱼类 IMP 的形成，这与本研究结果相似。在镜泊湖草鱼中的相对表达量高于市售草鱼，能够使 AMP、IMP 合成得到增强，进而镜泊湖草鱼 ATP 相关产物含量均高于市售草鱼。Du 等^[10]对海水养殖和淡水池塘养殖的日本鲈鱼也得到相似的结论，海水养殖组提高 IMP 合成相关基因的表达量，提高了日本鲈鱼肌肉中 IMP 的含量，从而改善鲈鱼的风味。

表 5 筛选出与风味相关的关键基因
Table 5 Key genes screened for flavor relevance

基因名称	P 值	log ₂ FC	表达模式	基因描述
AK4	3.27 × 10 ⁻³	1.38	上调	腺苷酸激酶 4
AMPD1	5.31 × 10 ⁻¹	0.24	上调	单磷酸腺苷脱氨酶 1
FASN	1.19 × 10 ⁻²	-1.26	下调	脂肪酸合成酶
LPL	2.03 × 10 ⁻³	1.53	上调	脂蛋白脂酶
PLIN2	1.29 × 10 ⁻⁶	-3.86	下调	围脂滴蛋白 2
ACOX1	1.02 × 10 ⁻²	-1.12	下调	酰基-CoA 氧化酶 1
FABP1a	4.38 × 10 ⁻²	-2.57	下调	脂肪酸结合蛋白 1a
BCAT1	1.92 × 10 ⁻²	1.70	上调	支链氨基酸转氨酶 1
BCAT2	8.08 × 10 ⁻³	1.48	上调	支链氨基酸转氨酶 2
DDO	2.03 × 10 ⁻²	1.57	上调	d-天冬氨酸氧化酶

脂肪含量作为衡量鱼类品质的一个指标，含量过高会影响鱼肉的风味与口感。PPAR 信号通路、AMPK 信号通路在本研究中被显著富集，它们是影响脂肪沉积的关键通路。其中 FASN、LPL、PLIN2、ACOX1、FABP1a 在通路中显著富集。研究指出脂肪酸合酶（FASN）是影响脂肪沉积的关键基因，脂蛋白脂酶（LPL）负责分解血浆中脂蛋白，与机体的脂质代谢及肥胖与否密切相关^[12]。本研究中 FASN 表达显著下调、LPL 表达上调，与陈沛等^[24]脂肪蓄积的圆口铜鱼研究相一致，脂肪蓄积过多，富含的不饱和脂肪酸极易氧化，氧化产物会直接影响鱼肉风味。PLIN2 属于细胞脂滴相关蛋白家族成员，是 PPAR 通路中的一个重要因子，表达上调时通过调节肌肉细胞外脂质的储存来提高 IMF 含

量^[25,26]。酰基辅酶 a 氧化酶 1 (*ACOX1*), 脂肪酸结合蛋白 1a (*FABP1a*) 与脂肪酸运输和脂肪沉积有关^[27], 在镜泊湖草鱼组中均下调表达, 这可能是镜泊湖草鱼脂肪含量更低的主要原因。Jia 等^[34]发现高密度养殖的鲈鱼, PPAR 等脂质相关代谢通路会受到影响, 加剧了鱼体的氧化应激从而影响鱼肉的品质。鱼类脂肪储备的主要部位位于腹部的肠系膜脂肪组织、肝脏。前期处理中也观察到, 镜泊湖草鱼腹部脂肪明显少于市售草鱼, 与脏体比结果相一致。这可能由于在野外环境, 镜泊湖草鱼消耗能量较大, 减少了脂肪的积累, 从而改善了鱼肉品质。

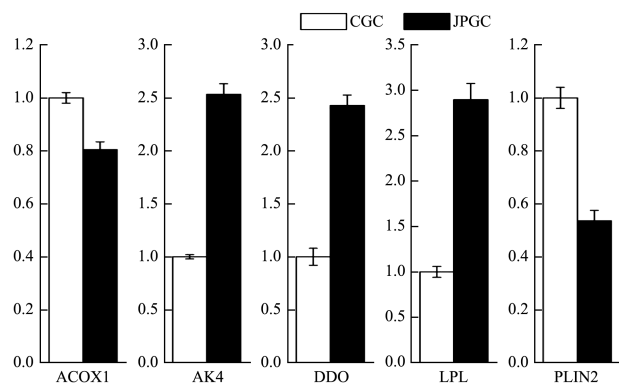


图 7 差异表达基因 RT-qPCR 验证

Fig.7 Validation of DEGs by RT-qPCR

氨基酸对风味的影响是复杂的, 其组成与分布是影响风味的重要因素。肉的风味是由多种呈味氨基酸的复杂组合和比例决定的, 而不是由单一类型决定的。前期研究发现, 镜泊湖草鱼 Glu 含量 7.53 g/100 g、Asp 含量 5.69 g/100 g, 两种鲜味氨基酸均显著高于市售草鱼^[6]。这可能是在环境胁迫下, 鱼类需要适应环境而导致通路的变化, 以维持基本的代谢和生命活动。在氨基酸代谢中发现了 3 个上调基因。支链氨基酸是多种挥发性风味物质的前体物质, 分解代谢由支链氨基酸转氨酶 (*BCAT1*、*BCAT2*) 的调控完成。 α -酮戊二酸是 Glu 的重要前体物质, 在 *BCAT1*、*BCAT2* 的作用下将支链氨基酸转移到 α -酮戊二酸反应生成 Glu^[29]。作为肌肉中主要的支链氨基酸转氨酶, 在氨基酸代谢通路中表达上调, 加快了 Glu 的生成使其含量增加^[28]。Holeček^[35]发现在饥饿状态下, 支链氨基酸转氨酶的高活性, 会使肌肉中会将支链氨基酸与 α -酮戊二酸转化, 从而生成谷氨酸, 这与本研究结果相似。在丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢通路中, D-天冬氨酸氧化酶 (*DDO*) 表达量上调, 进而加快了通路中草酰乙酸的合成。草酰乙酸作为三羧酸循环的

中间产物, 在转氨酶的催化下生成的 Asp^[30]。这些基因在鲜味氨基酸的产生中起到重要作用, 这可能是镜泊湖草鱼表现出更好风味的又一原因。

2.7 RT-qPCR 验证结果

为进一步验证转录组数据的准确性, 选用涉及嘌呤代谢通路、PPAR 信号通路、AMPK 信号通路、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢通路中的 5 个具有代表性 DEGs, 采用 RT-qPCR 测定相关基因的相对表达水平。结果如图 7 所示, *AK4*、*DDO*、*LPL* 基因表达上调; *ACOX1*、*PLIN2* 基因表达下调, 这些基因的表达与转录组测序获取的基因表达结果趋势一致。因此, 可以说明本试验转录组测序数据真实可靠。

3 结论

本试验结果表明, 镜泊湖草鱼与市售草鱼在形态特征方面表现出不同的特点, 由于生长环境不同, 为减少水流带来的能量消耗, 镜泊湖草鱼体型修长纤细, 总长度 52.55 cm、体高 8.40 cm、空壳率达到 92.32%, 可食用部分更高、腹部脂肪沉积少、肉质紧实, 这对鱼体的风味具有积极影响。此外转录组测序共鉴定出了 1 587 个 DEGs, 其中上调 527 个, 下调 1 060 个。发现基因 *AK4*、*AMPD1* 参与肌苷酸 (IMP) 的形成; *FASN*、*LPL*、*PLIN2*、*ACOX1*、*FABP1a* 对肌肉脂肪 (IMF) 的形成具有潜在影响; 在风味氨基酸的形成中 *BCAT1*、*BCAT2*、*DDO* 起重要作用。经 RT-qPCR 验证发现本次转录组测序结果具有较高的可靠性。总体来说, 这些差异基因在镜泊湖草鱼风味品质方面表现出积极的作用。本研究结果将有助于进一步探索风味相关基因的功能, 更好地理解风味基因相关的遗传机制, 可为牡丹江地区特有水产种质资源利用提供一定的理论依据。

参考文献

- [1] 杨富亿, 文波龙, 李晓宇, 等. 达里湖与五大连池和镜泊湖鱼类多样性比较研究[J]. 湿地科学, 2023, 21(2): 280-291.
- [2] 宋聃, 都雪, 金星, 等. 基于水声学探测的镜泊湖鱼类时空分布特征及资源量评估[J]. 湖泊科学, 2022, 34(6): 2095-2104.
- [3] 郑培儒, 李春华, 叶春, 等. 镜泊湖沉积物各形态磷分布特征及释放贡献[J]. 中国环境科学, 2021, 41(2): 883-890.
- [4] 董立学, 解绥启, 周亮, 等. 饲料蛋白源和养殖密度对草鱼生长性能、体成分和血清生化指标的影响[J]. 水生生物学报, 2023, 47(2): 217-226.

- [5] DU H, LV H, XU Z, et al. The mechanism for improving the flesh quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) following the micro-flowing water treatment using a UPLC-QTOF/MS based metabolomics method [J]. Food Chemistry, 2020, 327: 126777.
- [6] CHEN H S, PAN D Y, DU H Z, et al. Flavor differences of edible parts of grass carp between Jingpo lake and commercial market [J]. Foods, 2022, 11(17): 2594.
- [7] 郭精桐,赵圆,孙玉敬.番茄果实风味及其影响因素的研究进展[J].食品科学,2023,44(17):169-177.
- [8] DU H, XIONG S, LV H, et al. Comprehensive analysis of transcriptomics and metabolomics to understand the flesh quality regulation of crucian carp (*Carassius auratus*) treated with short term micro-flowing water system [J]. Food Research International, 2021, 147: 110519.
- [9] ZHAO H, CHONG J, LI D, et al. Integrated multiple-omics reveals the regulatory mechanism underlying the effects of artificial feed and grass feeding on growth and muscle quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. Aquaculture, 2023, 562: 738808.
- [10] DU X, WU J, HE J, et al. Marine cage culture leads to higher IMP content and ADSL gene expression in the muscle of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) compared with freshwater pond culture [J]. Aquaculture Research, 2022, 53(18): 6797-6802.
- [11] JIA S, WANG L, ZHANG J, et al. Comparative study on the morphological characteristics and nutritional quality of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) cultured in an aquaculture system using land-based container with recycling water and a traditional pond system [J]. Aquaculture, 2022, 549: 737721.
- [12] 王文雯.不同天气条件下光照强度对小头鲈生理生化及其相关基因节律性表达的影响[D].大连:大连海洋大学,2024.
- [13] ZHANG A, LUO W, WANG J, et al. Length-to-weight and length-to-length relations of 15 freshwater fish species (*Actinopterygii: Cypriniformes*) from the Oujiang River, China [J]. Acta Ichthyologica et Piscatoria, 2022, 52(1): 91-93.
- [14] VALENTE L M P, CORNET J, DONNAY-MORENO C, et al. Quality differences of gilthead sea bream from distinct production systems in Southern Europe: Intensive, integrated, semi-intensive or extensive systems [J]. Food Control, 2011, 22(5): 708-717.
- [15] 赵旺,江淼,陈明强,等.离岸养殖与陆基养殖尖吻鲈形态性状与体质量的相关性研究[J].海洋学报,2018,40(8):53-62.
- [16] HU L, YUN B, XUE M, et al. Effects of fish meal quality and fish meal substitution by animal protein blend on growth performance, flesh quality and liver histology of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. Aquaculture, 2013, 372: 52-61.
- [17] LIU G, WU Y, QIN X, et al. The effect of aerobic exercise training on growth performance, innate immune response and disease resistance in juvenile *Schizothorax prenanti* [J]. Aquaculture, 2018, 486: 18-25.
- [18] 陈剑斌,许耀升,徐杭忠,等.复合型营养添加剂对大口黑鲈肝脏的修复效果[J].当代水产,2022,47(6):69-70.
- [19] 邵俊杰,张世勇,朱昱璇,等.不同养殖模式对斑点叉尾生长和肌肉品质特性的影响[J].水产学报,2017,41(8):1256-1263.
- [20] 原居林,刘梅,倪蒙,等.不同养殖模式对大口黑鲈生长性能、形体指标和肌肉营养成分影响研究[J].江西农业大学学报,2018,40(6):1276-1285.
- [21] CARSON S A, KALLEN A N. Diagnosis and management of infertility: a review [J]. Jama, 2021, 326(1): 65-76.
- [22] 陈继兰.鸡肉肌苷酸和肌内脂肪含量遗传规律及相关候选基因的研究[D].北京:中国农业大学,2004.
- [23] 施丽娜,王亚群,王明星,等.甘油二酯油对降血脂及控制体重作用的机制研究进展[J/OL].中国油脂,1-12[2024-04-10].
- [24] 陈沛,杨菁,赵煜,等.基于转录组测序对圆口铜鱼脂肪肝表型的分析[J].中国饲料,2024,11:121-128.
- [25] 行倩文,吴华,刘嘉华,等.低氧环境紫锥菊提取物-菊苣酸通过PPAR信号通路对SD大鼠肝脏组织脂肪合成的影响[J].中国兽医学报,2024,44(1):135-140.
- [26] 谢帝芝,宋尚书,陈芳,等.PPAR γ 调控鱼类脂质代谢作用机制的研究进展[J].水生生物学报,2024,48(3):524-536.
- [27] 毕清竹.大菱鲆脂肪和脂肪酸品质及其营养调控[D].上海:上海海洋大学,2021.
- [28] NIE C, HE T, ZHANG W, et al. Branched chain amino acids: beyond nutrition metabolism [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(4): 954.
- [29] HOU Y, WU G. l-Glutamate nutrition and metabolism in swine [J]. Amino Acids, 2018, 50(11): 1497-1510.
- [30] MORENO GARCÍA C A, ZHOU H, ALTIMIRA D, et al. The glutamate metabotropic receptor 5 (*grm5*) gene is associated with beef cattle home range and movement tortuosity [J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2022, 13(1): 111.
- [31] 张艳霞.养殖大黄鱼品质评价及冻藏过程中品质变化规律的研究[D].上海:上海海洋大学,2021.
- [32] 洗才凝.渔光一体养殖模式对中华绒螯蟹食用品质的影响[D].上海:上海海洋大学,2022.
- [33] ZHOU Y, ZUO A, LI Y, et al. Molecular characterization of adenosine monophosphate deaminase 1 and its regulatory mechanism for inosine monophosphate formation in triploid crucian carp [J]. Frontiers in Physiology, 2022, 13: 970939.
- [34] JIA R, WANG L, HOU Y, et al. Effects of stocking density on the growth performance, physiological parameters, redox status and lipid metabolism of *Micropterus salmoides* in integrated rice-fish farming systems [J]. Antioxidants, 2022, 11(7): 1215.
- [35] HOLEČEK M. Why are branched-chain amino acids increased in starvation and diabetes? [J]. Nutrients, 2020, 12(10): 3087.