

DOI: 10.12264/JFSC2021-0382

基于转录组测序筛选大口黑鲈食性驯化相关基因和 SNP 标记

邵嘉棋^{1,2}, 杜金星², 雷彩霞², 李胜杰², 董传举¹, 张猛¹, 李学军¹

1. 河南师范大学水产学院, 河南 新乡 453007;

2. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 农业农村部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室, 广东 广州 510380

摘要: 采用人工驯食方法改变肉食性鱼类的食性是其养殖过程中的关键环节, 但目前对鱼类食性驯化的分子遗传机制了解甚少。为了获得大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)食性驯化相关基因和标记, 本研究以 1 月龄大口黑鲈“优鲈 3 号”为研究对象, 对驯化其摄食人工配合饲料后的易驯食组和不易驯食组脑和肝脏组织进行转录组测序和分析。结果表明, 共获得 51255 万条高质量 clean reads, 注释到 27930 个基因, 易驯食组和不易驯食组脑和肝脏组织中差异表达基因分别为 362 和 3389 个, 其中参与调控食性驯化的基因 64 个, 如周期蛋白(period, *PERs*)、视紫红质(rhodopsin, *RHO*)、视黄醇脱氢酶(retinol dehydrogenase, *RDHs*)、角鲨烯单加氧酶(squalene monooxygenase, *SQLE*)、胆汁酸输出泵(bile salt export pump, *BSEP*)、瘦素(leptin, *LEP*)等主要分布在昼夜节律、光传导、视黄醇代谢、类固醇生物合成、胆汁分泌和 PI3K-AKT 信号通路中, 这些通路在环境适应、视觉系统、消化代谢、食欲控制等生物过程中发挥重要作用。从不易驯食组和易驯食组的差异表达基因中筛选出 21465 个 SNP 标记, 进一步采用 SNaPshot 技术对其中 14 个 SNP 标记在易驯食和不易驯食群体中进行验证并与驯食性状进行关联分析, 结果显示仅 *RDH12* 基因中的 *chr15-A+8322808G* 位点与驯食性状存在显著关联性($P < 0.05$), 其 AA 基因型为易驯食个体的优势基因型。本研究分别获得了与大口黑鲈驯食性状相关基因 64 个和 SNP 标记 1 个, 为分子标记辅助大口黑鲈食性驯化遗传改良提供了候选基因和标记。

关键词: 大口黑鲈; 驯食性状; 转录组测序; 差异表达基因; 单核苷酸多态性

中图分类号: S961

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2022)03-0421-14

鱼类食性驯化是渔业养殖产业中的重要环节之一, 尤其对于肉食性鱼类, 驯化其摄食人工配合饲料与保护养殖水体环境、节约海洋资源、减少疾病发生等方面均密切相关。目前, 对大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)、狗(*Canis lupus familiaris*)、鲸(*Cetacea*)等哺乳动物食性驯化开展了较广泛的研究, 解析了食性转变的分子机理^[1-5], 然而对鱼类食性驯化的分子调控机制研究相对匮乏。朱书礼等^[6]发现鱼类胰 α -淀粉酶基因 5'端序列的转录因子与鱼类食性转变具有一定的关系。鳊(*Siniperca chuatsi*)视黄醇脱氢酶 8 (*RDH8*)、酪

蛋白激酶(casein kinase, *CK*)、时钟基因(circadian locomoter output cycles protein kaput, *CLOCK*)、周期蛋白(*PER*)、神经肽(neuropeptide Y, *NPY*)、胆囊收缩素(cholecystokinin, *CCK*)、蛋白磷酸酶(protein phosphatase1, *PPI*)、突触结合蛋白(synaptotagmin, *SYT*)等基因可能是其易驯食人工饲料的重要调节因子^[7-8]。在草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)的研究中发现胰岛素受体(insulin receptor, *INSR*)、葡萄糖激酶(glucokinase, *GK*)、丝氨酸蛋白酶(serine protease, *PRSS*)、周期蛋白(*PER*)、多巴胺受体 D1 (dopamine receptor D1, *DRD1*)等基因可能与草鱼从食肉向食

收稿日期: 2021-08-22; 修订日期: 2021-10-22.

基金项目: 国家自然科学基金项目(32102776); 中央级公益性科研院所基本科研业务费项目(2021SJ-XK4, 2021SJ-CG1); 广州市科技计划项目(202002020018).

作者简介: 邵嘉棋(1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产遗传育种. E-mail: jq0822shao@163.com

通信作者: 李胜杰, 研究员, 研究方向为水产生物技术及遗传育种. E-mail: ssjli@163.com

草转变相关^[9]。此外,在鳃胃蛋白酶基因(pepsase, *PEP*)和生长激素基因(growth hormone, *GH*)、大口黑鲈脂蛋白脂酶基因(lipoprotein lipase, *LPL*)和长链脂酰辅酶 A 合成酶 1 基因(*Acy-CoA synthetase long-chain family member 1, ACSLI*)中均发现与驯食性状显著相关的 SNP 标记^[10-13]。对肉食性鱼类进行人工配合饲料的驯化,通过人工定向选育易驯食人工配合饲料的优良品种,有助于肉食性鱼类的规模化养殖和经济效益提升。

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)属凶猛肉食性鱼类,原产于北美洲,20 世纪 80 年代引入我国,经养殖推广,现已成为我国重要的淡水养殖经济鱼类。据渔业统计年鉴显示,2020 年我国大口黑鲈养殖总产量为 61.95 万 t^[14]。本实验室以大口黑鲈“优鲈 1 号”和自美国引进的大口黑鲈野生群体为选育基础群体,以易驯化摄食配合饲料和生长性状为主要选育目标,经连续多代选育培育出大口黑鲈新品种“优鲈 3 号”,推动了大口黑鲈全人工配合饲料替代冰鲜幼杂鱼的养殖^[15-16]。本研究以大口黑鲈“优鲈 3 号”为研究对象,根据接受人工配合饲料的难易程度分为易驯食组和不易驯食组,通过 RNA-seq 技术挖掘与食性驯化相关的通路及功能基因,进一步从这些基因中筛选与驯食性状关联的 SNP 位点,为利用分子标记技术辅助大口黑鲈食性驯化遗传改良奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验鱼及试验设计

实验鱼来自中国水产科学研究院珠江水产研究所广州基地。实验共设置 3 个平行组,每组分别放养 5000 尾出膜 6 d 的“优鲈 3 号”仔鱼于 1500 L 循环水养殖桶中,每天分别在 7:00、9:00、12:00、14:00、16:00 和 18:00 投喂丰年虫(购自天津丰年水产养殖有限公司),连续投喂 14 d,在出膜后第 20 天开始进行驯化摄食人工配合饲料(购买自福建天马科技股份有限公司)。按照鱼苗对配合饲料的接受程度来判定是否驯化成功,在投喂饲料半个小时后,将腹部饱满的鱼苗定义为易驯食个体(腹部内容物/体重在 18%~24%),反之则认为是不易驯食个体(腹部内容物/体重在 8%~12%)^[7]。在

驯食第 4 天,从每个平行组中随机挑选易驯食和不易驯食个体各 5 尾,分别采集大脑和肝脏,并放入盛有 RNA 样品保存液的冻存管中 4 °C 保存过夜后,再在 -80 °C 条件下保存备用。

用于关联分析的群体是从每个平行组中随机选取不易驯食个体和易驯食个体各 40 尾,共计 240 尾,测量其全长和体重,同时剪取尾鳍样本放入装有无水乙醇的 1.5 mL 离心管中。按照海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]说明书提取鳍条样品基因组 DNA,利用 1%琼脂糖(Sigma 公司,美国)凝胶电泳和多功能酶标仪(BioTek 公司,美国)对所获得的 DNA 样品进行质量和浓度的检测,置于 -20 °C 保存备用。

1.2 RNA 分离、文库制备和 RNA 测序

肝脏和脑组织总 RNA 的提取按照 TRIzol 试剂盒(Invitrogen, 美国)说明书进行,用 1%琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 2000 超微量分光光度计(Thermo Scientific, Delaware, 美国)检测 RNA 样品的完整性和浓度。每个平行组中易驯食组和不易驯食组的肝脏和脑组织各取 1 个 RNA 样本(每 5 尾鱼等质量混合提取一个 RNA 样本),共 12 个测序样本用于构建 paired-end 文库。用 Ribo-zero 试剂盒去除 rRNA 富集 mRNA,然后加入破碎缓冲液将 mRNA 断化成短片段,再以短片段 mRNA 为模板,用六碱基随机引物合成 cDNA 第一链,并加入缓冲液、dNTPs、DNA 聚合酶 I 和 RNase H 合成 cDNA 第二链,用 AMPure XP beads 进行纯化,加“A”尾和测序接头,进行 PCR 扩增并用 AMPure XP beads 纯化 PCR 产物,得到最终的文库^[17]。将构建好的文库用 Illumina HiSeq 2000 进行测序。

1.3 差异表达基因筛选

将测序原始序列用 Trimmomatic 软件^[18]进行过滤得到 clean reads。采用 HISAT2^[19]软件、Bowtie2^[20]软件与本实验室大口黑鲈参考基因组(未发表)比对,进行基因注释,注释后的基因用 FPKM^[21]法计算基因表达量,用 DEseq2^[22]进行不同组间差异表达基因的筛选,筛选条件为 FDR (false discovery rate) < 0.05, |log₂(FC)| > 1。将筛选出

的差异表达基因分别与 NR 数据库(<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/db/>)、GO 数据库(<http://www.geneontology.org>)、KEGG 数据库(<http://www.genome.jp/kegg/>)、Swiss-Prot 数据库(http://web.expasy.org/docs/swiss-prot_guideline.html)和 KOG 数据库(<ftp://ftp.ncbi.nih.gov/pub/COG/KOG/kyva>)进行 BLASTx 比对, 注释差异表达基因, 并进行 GO 功能分析和 KEGG 通路分析。为验证测序数据的可靠性, 以用于转录组测序的 RNA 反转录成 cDNA

作为模板, 对随机挑选的 19 个基因进行 RT-PCR 扩增, 扩增体系为 20 μ L, 包括 10 μ L SYBR Premix (TaKaRa, Dalian, China)、0.4 μ L 正反向引物、6.2 μ L ddH₂O 以及 3 μ L (7.5 倍稀释) cDNA 模板。扩增条件为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 然后 95 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 10 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 s, 循环 40 次, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算差异表达基因的相对表达水平。所有引物均委托广州艾基生物技术有限公司合成(表 1)。

表 1 RT-PCR 引物序列
Tab. 1 RT-PCR primer sequence

基因 ID gene ID	基因名称 gene name	正向引物(5'-3') forward primer (5'-3')	反向引物(5'-3') reverse primer (5'-3')
Msa012766	<i>FBXL3</i>	GGGAGGCTTTGGTCCGACAC	CACACCACCAGCTCCACCAG
Msa013841	<i>RORB</i>	CGCGGTCAAGTTCGGTCGTA	AGATGCCGTCCTCCTTGGGT
Msa010146	<i>ARNTL</i>	CCAGCCTGGCAGACATCAGG	TGCAGCACTTGTCTGTGGCA
Msa001836	<i>CLOCK</i>	ACGTGACCAGAGCACAGCAC	AGCCACAGCAGGAGTGTGG
Msa000971	<i>IRS2</i>	ACATCTCGTCCCGGAGCAGT	CGCCAGGTCTCGCATTCT
Msa016871	<i>CYP3A40</i>	GGGTCAGCCAACCTATGAAGCC	AGGGTCACGGTGGAGAGTGT
Msa009890	<i>BHLHE41</i>	TCACAAGGTGTTGGCGCAGT	ACCGGGACACAGTTGGCTTG
Msa016973	<i>RHO</i>	CCCAGAGGGCATGCAGTGTT	GTGCAGAGCAGGCGACTGTA
Msa003007	<i>PER1</i>	TTCAGGGTCTCAGGCACGA	GCAGGCTGTTTGCGGGAATG
Msa013976	<i>PER2</i>	GCAGGACAACCCGTCAACCA	TCTCTTCTCAGCGGGCAGGT
Msa003787	<i>PER3</i>	GCTGGGCTCGGGCTTTATT	CATGGAGGCTCTCGCTGTGG
Msa004921	<i>CRY</i>	TGTCTGCACGCACCTTCTGG	ACCCACGCTAGCCGTGTAGA
Msa004284	<i>RDH5</i>	TGTGAACAACGCTGGACGCT	TGCCAGCACTGATGCTACG
Msa015548	<i>RDH12</i>	GCAGCAGGAGGAGTGTGCAA	AGGTCCAGGGCAGTCTCCTT
Msa009808	<i>LEPTIN</i>	TCAGCTGCTCCTCTGCCAGT	GGGCTGAGAGTCAGGCCAAC
Msa002432	<i>AMPAR</i>	CGTCTGCGTGTGAGGAAGT	GGATCCTTTGGGCGTGGCAA
Msa001004	<i>BSEP</i>	AGGGCATGGTACCCTGGAT	GCAACGGTGGTGGCAAACAG
Msa011453	<i>SQLE</i>	TTGCCTCTGCGCCTTTGTC	GCAACTGGTTGAGCCACCCT
Msa005609	<i>GCAP</i>	TCTACGGAAGAAGAAGCTGCATA	TCCAGACAGCCATTCCATCT

1.4 SNP 标记筛选及与驯食性状关联分析

为了筛查测序文库中单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP), 采用 GATK 软件^[23], 将至少一个样本中 reads 丰度不小于 4, QD<1, FS (FisherStrand)>30 作为筛选条件, 筛选出潜在 SNP 标记。为进一步验证转录组数据库中的 SNP 标记有效性, 选择 60 尾易驯食个体和 60 尾不易驯食个体的 DNA 样品作为模板, 挑选差异表达基因中的 14 个潜在 SNP 标记进行 SNaPshot 分型, 最后在关联分析群体中进行标记与驯食性状的关

联分析。SNaPshot 分型检测委托上海捷瑞生物工程有限公司完成, 首先是根据 SNP 标记上下游的序列设计引物, 扩增含有 SNP 的目的片段, 长度在 200~500 bp。然后采用多重 PCR 扩增目的片段。PCR 反应采用 Touch-down 方法, 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 15 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 11 个循环, 每个循环的退火温度降 0.5 $^{\circ}$ C; 94 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 54 $^{\circ}$ C 退火 15 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 24 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 3 min。再将扩增到的目的片段用 ExoI 和 FastAP 进行纯化, 去除反应产物中的剩

余引物和 dNTP。用 SNaPshot 试剂盒(ABI 公司, 美国)中的 SNaPshot Mix 试剂与纯化后的 PCR 产物混合, 对 PCR 产物进行延伸反应, 最后在 ABI3730 全自动测序仪上进行测序。

1.5 数据分析

采用 SPSS26.0 进行数据分析, 用卡方检验进行 SNP 基因型与驯食性状的相关性分析, 检验结果 $P < 0.05$ 表示显著相关。

2 结果与分析

2.1 转录组测序数据和基因注释

采用 RNA-seq 技术对大口黑鲈易驯食组和不易驯食组的肝脏和脑组织转录组进行分析, 总共获得 52234 万条 raw reads, 过滤后得到 51255 万条高质量短读序(clean reads), 共注释到 27930 个基因。各组 Q30 的碱基质量值比例均不小于 93.00%, 错误率均小于 0.03% (表 2)。此外, 能成功比对到大口黑鲈参考基因组上的 reads 均超过 91%, 且有 84%~87.81% 的 reads 被比对到参考基因组的唯一位置, 说明转录组测序数据可靠。

2.2 差异表达基因筛选

与不易驯食组相比, 在易驯食组脑组织中有

203 个差异表达基因上调, 159 个差异表达基因下调; 肝脏组织中有 1778 个差异表达基因上调, 1611 个差异表达基因下调。进一步对筛选到的差异表达基因进行 GO 功能性显著富集分析, 脑和肝脏组织中差异表达基因分别富集到 42 和 48 个 GO 条目, 其中脑组织中参与生物过程、分子功能和细胞组分相关联的基因个数占比分别为 49.24%、20.15% 和 30.61%, 肝脏组织中占比分别为 49.75%、19.64% 和 30.61% (图 1)。对差异表达基因进行 KEGG 通路分析, 结果显示脑和肝脏组织中差异表达基因分别被富集到 147 和 271 个已知 KEGG 通路。将显著性富集 ($P < 0.05$) 的前 20 条 KEGG 通路绘制成 KEGG 富集散点图(图 2)。通过 KEGG 显著性富集确定差异表达基因参与的主要生化代谢途径和信号转导途径, 包括昼夜节律通路、类固醇生物合成通路、PPAR 信号通路、PI3K-AKT 信号通路等。

2.3 食性驯化相关基因鉴定

对易驯食组和不易驯食组间的差异表达基因进行分析, 发现与食性驯化相关基因主要参与昼夜节律、光传导、视黄醇代谢、类固醇生物合成、

表 2 大口鲈鱼肝脏、脑组织转录组文库测序数据

Tab. 2 Transcriptome library sequencing data of liver and brain in *Micropterus salmoides*

样本 sample	原始读序 raw reads	高质量读序 clean reads	错误率/% error rate	Q30/%	GC 含量/% GC content	映射 map to genome	
						总映射读取比/% total mapped reads ratio	唯一映射读取比/% unique mapped reads ratio
BN1	44258416	43398834	0.03	94.14	46.15	92.75	87.75
BN2	37135194	36421860	0.03	93.99	45.52	92.83	87.81
BN3	43748170	42897676	0.03	93.87	45.77	92.89	87.74
BY1	42949190	41958378	0.03	93.00	46.85	91.94	86.29
BY2	43727078	42843786	0.03	93.49	46.79	92.10	86.50
BY3	42741254	41954296	0.03	93.59	46.45	92.57	87.27
LN1	42233068	41336834	0.03	93.84	47.81	93.01	84.33
LN2	43236186	42312618	0.03	94.06	48.07	92.82	84.93
LN3	48216332	47191010	0.03	93.80	47.97	93.01	84.00
LY1	39265466	38420142	0.03	93.89	48.60	93.69	85.19
LY2	41142006	40271210	0.03	94.16	48.63	93.71	84.60
LY3	53689492	53541870	0.02	94.67	49.12	94.05	85.59

注: BN 为不易驯食组的脑组织; BY 为易驯食组的脑组织; LN 为不易驯食组的肝脏组织; LY 为易驯食组的肝脏组织。

Notes: BN represents brain of non-domesticated group; BY represents brain of domesticated group; LN represents liver of non-domesticated group; LY represents liver of domesticated group.

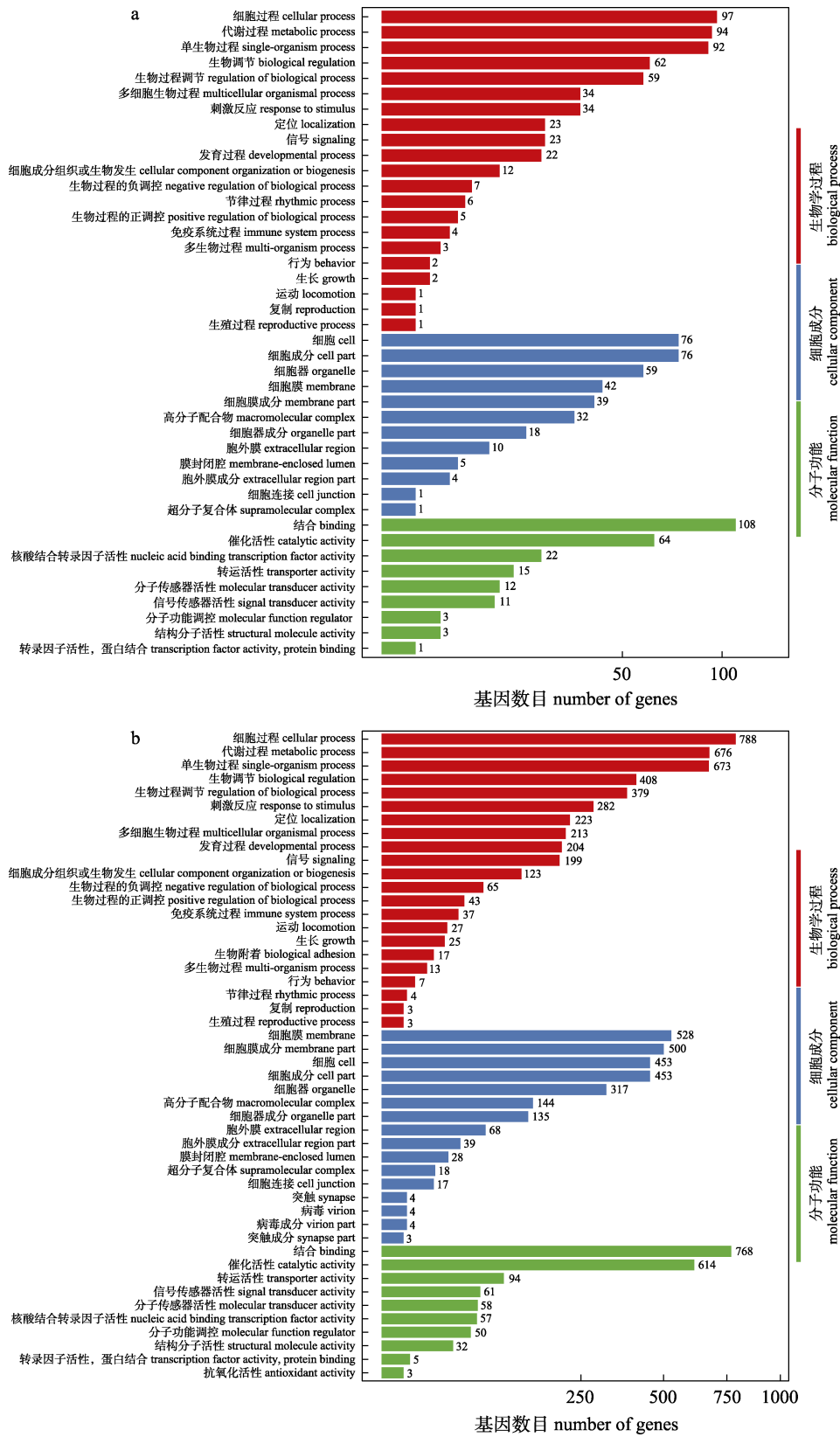


图 1 驯食组和不易驯食组大口黑鲈脑(a)和肝脏组织(b)中差异表达基因 GO 功能分类
 Fig. 1 GO functional classification of differentially expressed genes in brain (a) and liver (b) tissues of domesticated and non-domesticated *Micropterus salmoides* groups

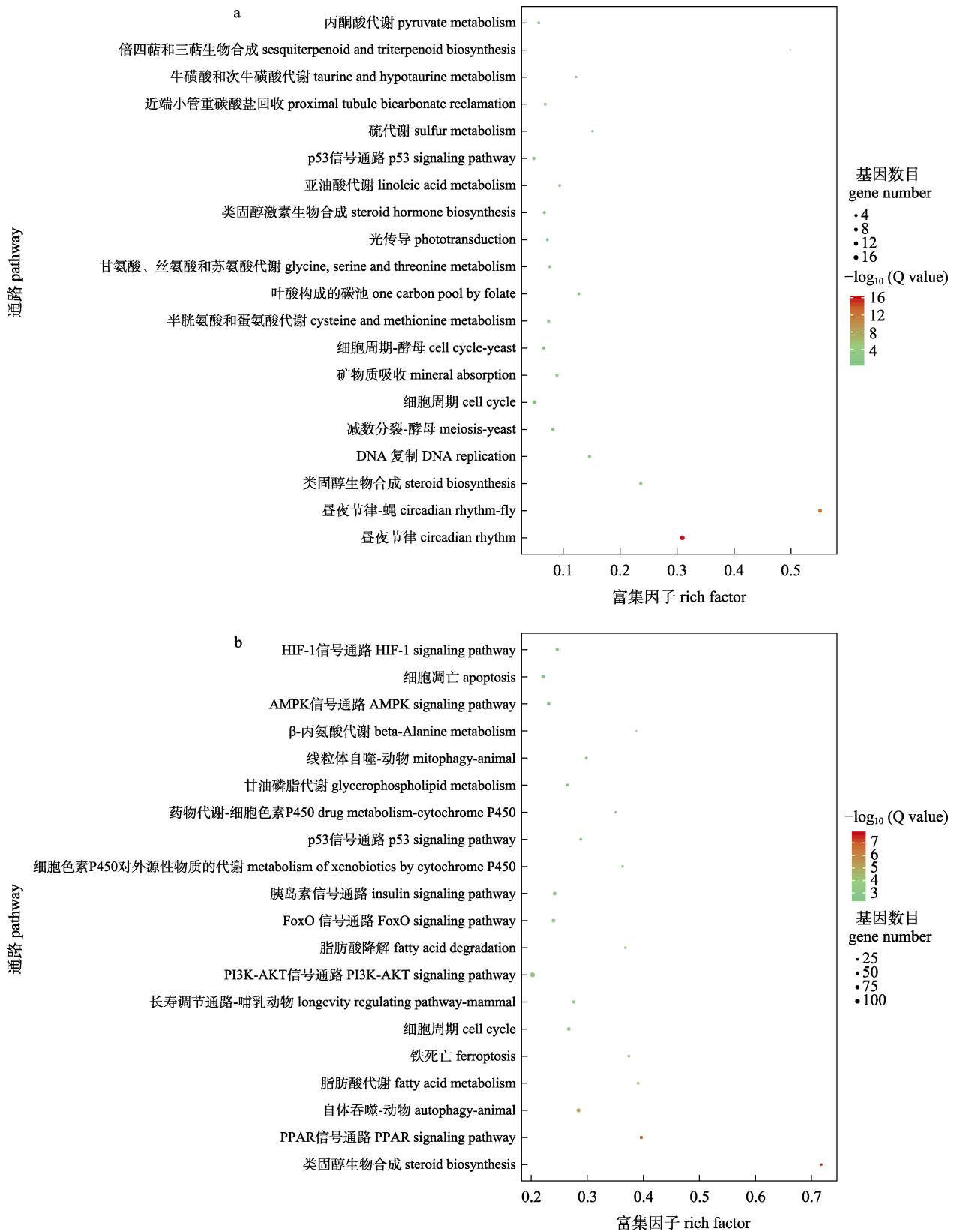


图 2 驯食组和不易驯食组大口黑鲈脑(a)和肝脏组织(b)中差异表达基因 KEGG 富集散点图

Fig. 2 KEGG enrichment scatter plot of differentially expressed genes in brain (a) and liver (b) tissues of domesticated and non-domesticated *Micropterus salmoides* groups

胆汁分泌和 PI3K-AKT 信号通路, 这些通路调控环境适应、视觉系统、消化代谢、食欲控制等主要生物过程, 包括 *LEP*、*PERs*、*RHO*、*RDHs*、*BSEP* 等基因(图 3)。其中, 参与昼夜节律的 *PERs* 在易驯食组脑和肝脏组织中表达上调, *CLOCK* 表达下调; 参与光传导的 *RHO* 在易驯食组脑组织中表达下调; 参与视黄醇代谢的 *RDHs* 在易驯食组肝脏组织中表达上调。涉及食欲控制和消化代谢的差异表达基因大多数在易驯食组肝脏组织中发生显著变化, 在脑组织中未明显变化, 例如参与食欲控制的 *LEP*、胰岛素受体底物(insulin receptor substrate, *IRS1*)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(RAC serine/threonine-protein kinase, *AKT*)和参与消化代谢的 *BSEP*、法尼基-二磷酸法尼基转移酶(farnesyl-diphosphate farnesyltransferase, *FDFTI*) 在易驯食组肝脏组织中表达水平显著上调。为进一步验证转录组测序的准确性, 从食性驯化相关基因中随机选择 19 个进行 RT-PCR 分析, 结果显示 19 个基因的表达模式与测序结果一致(图 4), 表明测序结果的可信度高。

2.4 SNP 的筛选与分型

在不易驯食组和易驯食组中共筛选出 111571 个 SNP 位点, 其中位于差异表达基因上的 SNP 位点有 21465 个。为进一步验证这些 SNP 位点的有效性, 从差异表达基因中挑选出 14 个 SNP 位点进行分型检测。结果显示, 14 个 SNP 位点可成功分型(表 3)。在验证群体中将 14 个 SNP 位点与驯食性状进行关联分析, 筛选出 4 个与驯食性状存在潜在性相关的位点。进一步扩大群体进行关联分析, 仅有 1 个 SNP 位点 *chr15-A+8322808G* 与驯食性状存在显著相关性($P < 0.05$)(表 4)。该位点位于 *RDH12* 的 3'UTR 区域, 存在 3 种基因型为 AA、GG 和 AG (图 5), 其中 AA 基因型为易驯食群体中的优势基因型。

3 讨论

在自然条件下, 动物的摄食行为具有一定规律, 进而表现出类似昼夜节律的摄食模式, 并最终形成一种类似“生物钟”的内源性节律^[24-25]。昼夜节律是指生命活动以 24 h 左右为周期的变动,

由正负反馈回路形成^[26-27]。Cahill^[24]发现斑马鱼(*Danio rerio*)昼夜节律形成的分子调控机制与哺乳动物基本一致, 正反馈回路通过驱动 *CLOCK*/*BMAL1* 异二聚体, 从而激活下游含有 E-box 顺式增强子序列的靶基因转录, 负反馈回路则是周期蛋白(*PER1*, *PER2* 和 *PER3*)和隐花色素基因(cryptochrome, *CRY1* 和 *CRY2*)的节律性转录^[26]。*PER* 和 *CRY* 蛋白形成异二聚体, 作用于 *CLOCK*/*BMAL1* 异二聚体, 抑制其自身的转录^[28]。Kobayashi 等^[29]通过禁食对小鼠(*Mus culus*)昼夜节律基因表达水平进行检测, 发现禁食后 *PER2* 在肝脏中的表达水平显著降低。研究发现草鱼从食肉到食草和鳊从食活饵到食死饵的转变中, *PERs* 基因在食性转变后表达水平下调, *CLOCK* 基因表达水平上调^[7,9]。本研究中易驯食组大口黑鲈 *PERs* 基因表达水平上调, *CLOCK* 表达水平下调, 说明生物钟基因表达水平的变化可能会改变其摄食的昼夜节律以适应驯化过程中食性转变。

视觉是过渡到外源性摄食和之后生存的基础, 因为大多数鱼是视觉摄食者, 故视觉是影响仔鱼开口摄食的主要因素之一^[30]。*RHO*、*RDHs*、鸟苷酸环化酶(guanylate cyclase, *GC*)是鱼类视觉系统的重要调节因子。光子将 *RHO* 中 11-顺式视黄醛异构化为全反式视黄醛, 并在暗视力和酶的作用下进一步被转化为 11-顺式视黄醛, 而后与视蛋白组合以完成视觉循环^[31]。He 等^[32]发现视黄醇代谢是鳊从食活饵到配合饲料过程中重要的代谢途径。*RDHs* 通过催化全反式视黄醛还原成全反式视黄醇(维生素 A)进而影响鱼类的视觉、生长发育等生理功能^[33-34]。Lucas 等^[35]研究发现鸟苷酸环化酶激活剂(guanylyl cyclase-activating protein, *GCAP*)作用的 *GC* 是催化 cGMP 合成的关键酶, 而 cGMP 下降会导致光感受器外段质膜中阳离子通道关闭, 从而影响视觉^[36]。Liang 等^[37]和张瑞祺等^[38]研究发现鳊难以进行饲料和死饵驯化的原因之一是其视力较弱, 无法快速完成食物的识别, 且拒食静止的食物, 说明视觉能力在食性驯化过程中起重要作用。与不易驯化摄食人工配合饲料的鳊相比, 易驯化鳊 *RDH8* 表达水平上调, *GC* 表达水平下调^[7]。本研究中易驯食组大口黑鲈

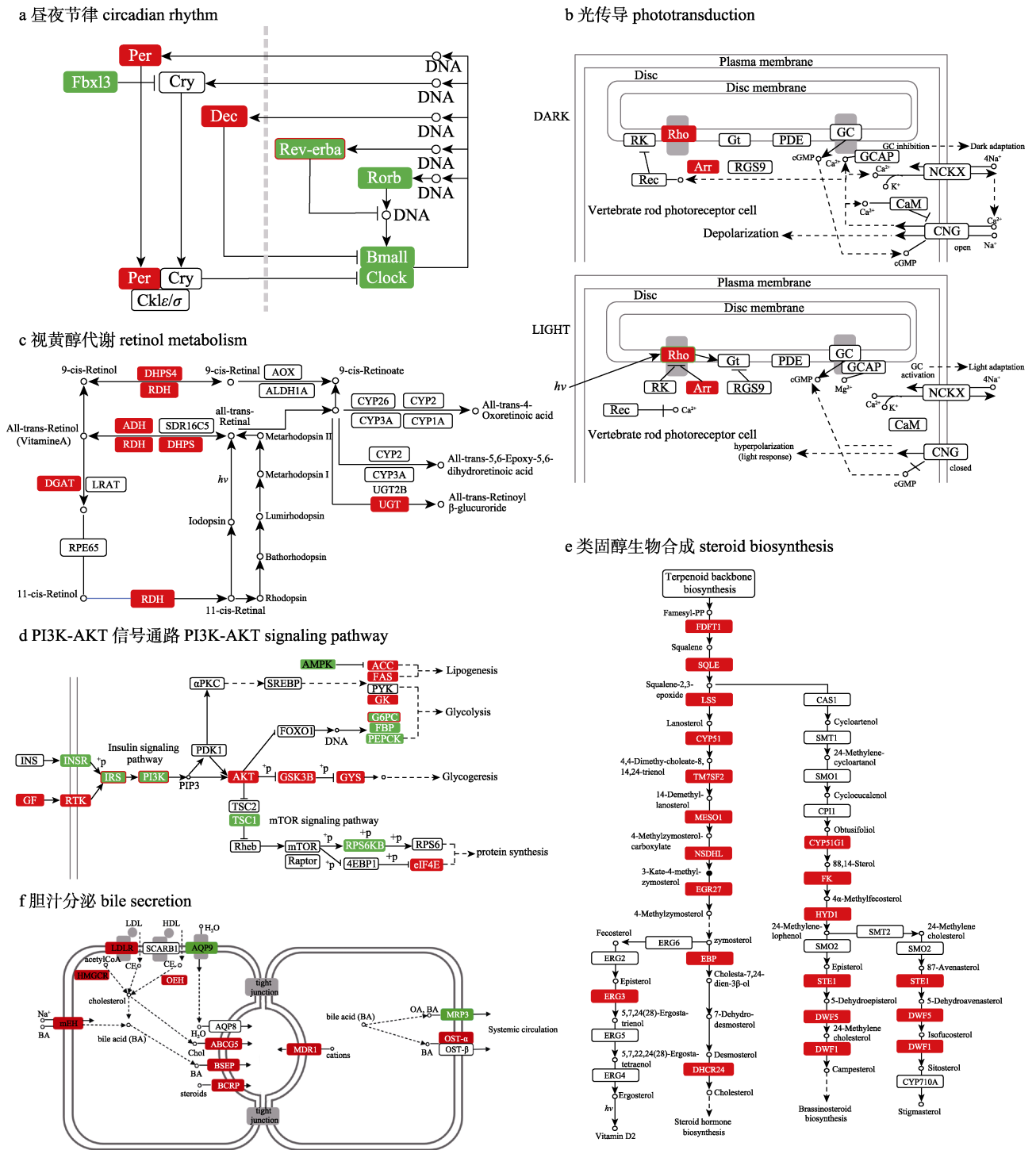


图 3 不易驯食组和易驯食组大口黑鲈脑和肝脏组织中的差异表达基因

与食性驯化相关的主要通路包括脑组织中昼夜节律通路(a)和光传导通路(b), 肝脏组织中视黄醇代谢通路(c)、PI3K-AKT 信号通路(d)、类固醇生物合成通路(e)、胆汁分泌通路(f)。红色表示相对于不易驯食组, 易驯食组中差异表达基因显著上调; 绿色表示相对于不易驯食组, 易驯食组中差异表达基因显著下调(FDR<0.05, |log₂(FC)|>1)。

Fig. 3 Differentially expressed genes in brain and liver tissues of domesticated and non-domesticated *Micropterus salmoides* groups. The main pathways related to food domestication include circadian rhythm pathways (a) and phototransduction pathways (b) in brain; retinol metabolism pathways (c), PI3K-AKT signaling pathway (d), steroid biosynthesis pathways (e) and bile secretion pathways (f) in liver. Red indicates that differentially expressed genes are significantly up-regulated in domesticated group compared with non-domesticated group. Green indicates that differentially expressed genes are significantly down-regulated in domesticated group compared with non-domesticated group.

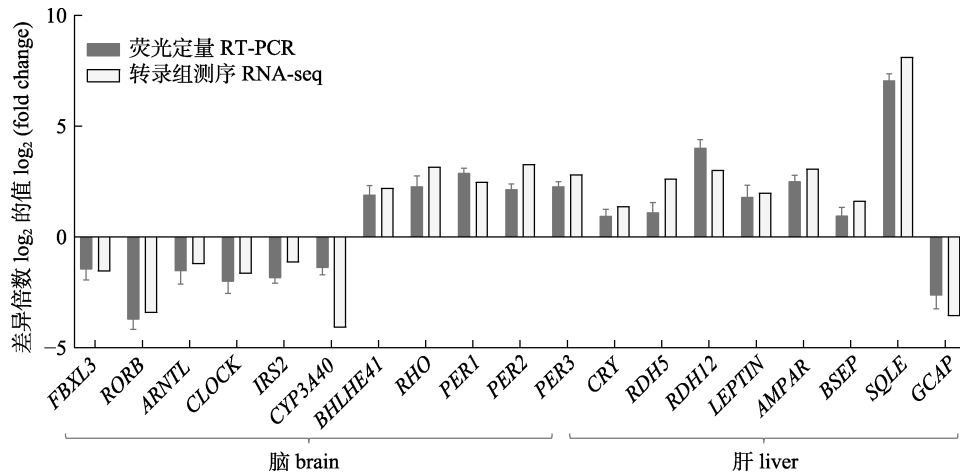


图 4 不易驯食组和易驯食组大口黑鲈脑和肝脏组织中 19 个差异表达基因表达量分析

Fig. 4 Validation of the expression of 19 genes in brain and liver tissues of domesticated and non-domesticated *Micropterus salmoides* groups

表 3 差异表达基因中 SNP 位置及其基因注释

Tab. 3 SNP positions and their gene annotations in differentially expressed genes

编号 ID number	染色体位置 chromosomal position	SNP 位置 SNP position	基因名称 gene name
Msa009808	9	19945249	leptin a
Msa003007	3	24164005, 24164013, 24164891, 24164981	period 1
Msa015548	15	8322808, 8322902, 8322924	retinol dehydrogenase 12
Msa014660	14	11200178, 11202367, 11202381	heat shock protein 90-alpha 1
Msa001004	1	48770128, 48770879	bile salt export pump
Msa017674	17	10437525	epoxide hydrolase 1

表 4 SNP 位点的基因型频率及其与大口黑鲈驯食性状的关联分析

Tab. 4 Association analysis between genotype frequency of SNP and domestication traits in *Micropterus salmoides*

位点 locus	基因型 genotype	基因型频率(个体数) genotype frequency (no.)		P
		易驯食组(120) domesticated group	不易驯食组(120) non-domesticated group	
Chr3-A+ 24164013T	AA	0.21 (25)	0.27 (32)	0.079
	TT	0.32 (38)	0.19 (23)	
	AT	0.47 (57)	0.54 (65)	
Chr3-A+ 24164891G	AA	0.31 (25)	0.27 (32)	0.079
	GG	0.32 (38)	0.19 (23)	
	AG	0.47 (57)	0.54 (65)	
Chr3-G+ 24164981A	AA	0.32 (38)	0.19 (23)	0.079
	GG	0.21 (25)	0.27 (32)	
	AG	0.47 (57)	0.54 (65)	
Chr15-A+ 8322808G	AA	0.375 (45)	0.24 (29)	0.044
	GG	0.20 (24)	0.18 (22)	
	AG	0.425 (51)	0.58 (69)	

肝脏组织中 *RDHs* 基因表达水平上调, *GCAP* 表达水平下调, 这一结果与鳊的研究结果相似。此外, 易驯食组脑中 *RHO* 的转录水平显著高于不易驯食组, 表明 *RHO*、*RDHs* 和 *GCAP* 是大口黑鲈食性驯化中重要的视觉基因, 进一步说明易驯食个体具有更好的视觉能力和光敏性。本研究在 *RDH12* 基因中鉴定到一个与驯食性状显著关联的 SNP 标记 *chr15-A+8322808G*, 该标记位于 *RDH12* 的 3'UTR 区域。SNP 发生在基因非编码区可能会影响转录因子与 DNA 的结合、非编码 RNA 的序列、基因的剪接、mRNA 的降解等, 进而影响基因表达^[39]。*RDH12* 基因位于光感受器内节段, 其功能突变可能会导致先天的视网膜退化^[34,40]。故该 SNP 标记 *chr15-A+8322808G* 可能影响大口黑鲈视网膜的光敏性, 进而影响食性驯化。因此认为, *RDH12* 是影响大口黑鲈食性驯化的重要视觉基因。

食欲调控在食性驯化过程中起重要作用, 动

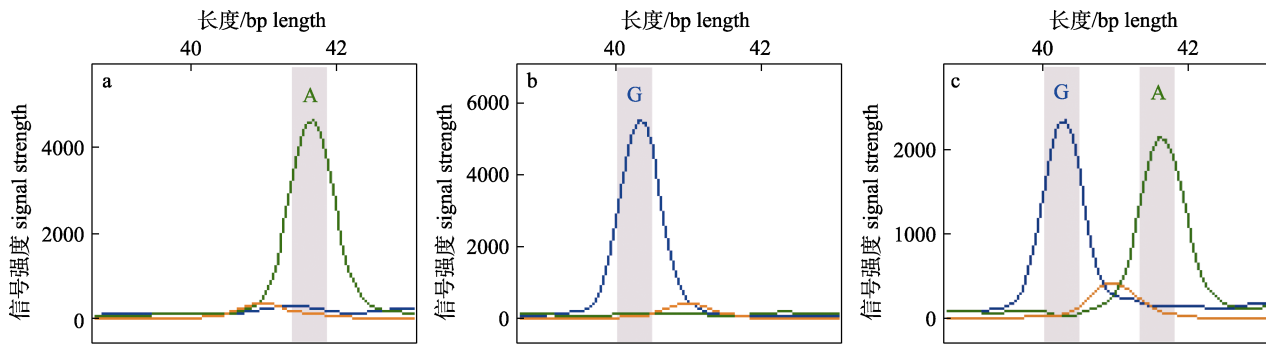


图 5 *chr15-A+8322808G* 标记基因型检测图

a. AA 基因型; b. GG 基因型; c. AG 基因型.

Fig. 5 *chr15-A+8322808G* marker genotype detection map

a. AA genotype; b. GG genotype; c. AG genotype.

物的食欲调控是一个非常复杂的神经-外周调节过程, 涉及外周食欲感受装置和中枢神经系统之间的一系列相互作用机制^[41]。PI3K-AKT 信号通路是食欲控制过程中重要的调控通路, 与其他信号通路共同调控糖代谢、蛋白质合成等生物过程。其中, 胰岛素结合细胞表面受体 INSR 通过 IRS 激活 PI3K-AKT 通路, IRS 是胰岛素信号通路和代谢调控的关键下游分子^[42]。在黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)肝脏中 *IRS2* 比 *IRS1* 对胰岛素刺激更为敏感^[43]。本研究中, *IRS1* 在易驯食组肝脏组织中表达水平上调, 而 *IRS2* 在易驯食组脑和肝脏中表达水平下调, 说明 *IRS* 基因在食性驯化过程中起重要作用。*AKT* 基因作为 PI3K-AKT 信号通路中重要的调控因子, 通过抑制糖原合成酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase-3 β , *GSK3 β*) 磷酸化, 进而激活糖原合成酶(glycogen synthase, *GYS*)导致糖原的合成, 降低血糖^[44]。*GSK3 β* 对胰岛素信号通路有负反馈作用^[45]。本研究中 *AKT*、*GSK3 β* 、*GYS* 基因在易驯食组肝脏组织中表达水平上调, 进一步说明 PI3K-AKT 信号通路是参与大口黑鲈食性驯化的重要食欲控制通路。此外, 瘦素是食欲控制中重要的外周食欲调控激素。*LEP* 在摄食行为和能量消耗方面起着重要作用^[46-47]。在草鱼食性转变研究中发现肝脏组织中 *LEP* 表达水平显著增加^[9], 在饱腹组刀鲚(*Coilia nasus*)的胃组织中 *LEP* 表达水平也显著增强^[48]。与不易驯食组相比, 本研究中易驯食组肝脏组织中 *LEP* 表达量显著增加($P < 0.05$), 说明 *LEP* 作为一个饱腹信号来

调控食欲, 进而参与食性驯化过程。

消化代谢是影响鱼类食物摄入的主要因素之一。食物的消化代谢可为机体提供维持正常生命活动所需的物质和能量^[49]。结果显示, 易驯食组与不易驯食组肝脏组织中存在大量与消化代谢相关的差异表达基因, 包括参与胆汁分泌^[50]的羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, *HMGCR*)、*BSEP*; 参与类固醇生物合成^[51]的 *FDFT1*、角鲨烯单加氧酶(squalene monooxygenase, *SQLE*); 参与蛋白质消化吸收^[52-53]的肽酶(neprilysin, *CD10*)和胶原蛋白(collagen, *COL*); 参与胰腺分泌^[54]的鸟苷酸结合蛋白(guanine nucleotide-binding protein, *GNAQ*)、Ras 相关蛋白(ras-related protein, *RABs*, *RAP1*); 参与脂肪酸消化吸收^[55]的二酰基甘油转移酶(diacylglycerol O-acyltransferase, *DGAT*)、微粒体甘油三酯转运蛋白(microsomal triglyceride transfer protein, *MTTP*)和载脂蛋白(apolipoprotein B, *APOB*)。其中类固醇生物合成是 KEGG 通路中富集显著的通路, *SQLE* 和 *FDFT1* 是类固醇生物合成中关键酶, 可调控胆固醇、油菜素甾醇、麦角固醇的生成以及促进初级胆汁酸和类固醇激素的生物合成。胆汁分泌是影响消化代谢重要的生物过程, 其中胆汁酸(BAs)有助于脂肪吸收, 在葡萄糖和代谢调节中发挥作用^[50]。本研究中 *BSEP* 基因在易驯食肝脏组织中表达水平显著上调($P < 0.01$), *BSEP* 介导的胆汁酸流出是胆汁分泌的主要驱动力, 而胆汁是小肠消化和吸收脂肪和脂溶性维生素所必需的, 进而影

响食物摄入^[56-57]。参与消化代谢的差异表达基因在易驯食组肝脏中表达水平显著上调,说明易驯食组个体对配合饲料的消化代谢能力更强,进一步解释了易驯食组对人工配合饲料接受程度高的原因。

综上所述,本研究利用 RNA-seq 技术对大口黑鲈易驯食组和不易驯食组的脑和肝脏组织进行转录组测序分析,分别筛选到 362 和 3389 个差异表达基因,并从这些差异表达基因中检测到 21465 个 SNP 位点。影响大口黑鲈食性驯化的差异表达基因主要参与昼夜节律、光传导、视黄醇代谢、类固醇生物合成、胆汁分泌和 PI3K-AKT 信号通路,这些通路调控环境适应、视觉系统、消化代谢、食欲控制等主要生物过程,包括 *LEP*、*PERs*、*RHO*、*RDHs*、*BSEP* 等基因。*RDH12* 基因中 *chr15-A+8322808G* 突变位点与驯食性状显著关联($P < 0.05$),其 AA 基因型为易驯食个体中的优势基因型。本研究获得了与大口黑鲈驯食性状相关的 64 个候选基因和 1 个 SNP 标记,为大口黑鲈食性驯化性状的分子标记辅助育种研究提供了候选基因和分子标记,也为肉食性鱼类食性遗传改良提供理论基础和依据。

参考文献:

- [1] Zhao H B, Yang J R, Xu H L, et al. Pseudogenization of the umami taste receptor gene *Tas1r1* in the giant panda coincided with its dietary switch to bamboo[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2010, 27(12): 2669-2673.
- [2] Li R, Fan W, Tian G, et al. The sequence and de novo assembly of the giant panda genome[J]. *Nature*, 2010, 463: 311-317.
- [3] Axelsson E, Ratnakumar A, Arendt M L, et al. The genomic signature of dog domestication reveals adaptation to a starch-rich diet[J]. *Nature*, 2013, 495: 360-364.
- [4] Wang Z F, Xu S X, Du K X, et al. Evolution of digestive enzymes and RNASE1 provides insights into dietary switch of cetaceans[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(12): 3144-3157.
- [5] Wiener P, Wilkinson S. Deciphering the genetic basis of animal domestication[J]. *Proceedings Biological Sciences*, 2011, 278(1722): 3161-3170.
- [6] Zhu S L, Zhang Y Q, Chen W T, et al. Analysis of the relationship between the pancreatic alpha amylase gene 5' flanking sequence and the feeding habits of fish[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2020, 27(3): 277-285. [朱书礼, 张迎秋, 陈蔚涛, 等. 胰 α -淀粉酶基因 5'端调控序列与鱼类食性的关系[J]. *中国水产科学*, 2020, 27(3): 277-285.]
- [7] He S, Liang X F, Sun J, et al. Insights into food preference in hybrid F1 of *Siniperca chuatsi* (♀) \times *Siniperca scherzeri* (♂) mandarin fish through transcriptome analysis[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 601.
- [8] Dou Y Q, He S, Liang X F, et al. Memory function in feeding habit transformation of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*)[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(4): 1254.
- [9] He S, Liang X F, Li L, et al. Transcriptome analysis of food habit transition from carnivory to herbivory in a typical vertebrate herbivore, grass carp *Ctenopharyngodon idella*[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 15.
- [10] Dou Y Q, Liang X F, Gao J J, et al. Single nucleotide polymorphisms in pepsinogen gene, growth hormone gene and their association with food habit domestication traits in *Siniperca chuatsi*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2020, 27(5): 485-493. [窦亚琪, 梁旭方, 高俊杰, 等. 鳊 *pep* 和 *gh* 基因 SNP 标记与驯食性状的关联分析[J]. *中国水产科学*, 2020, 27(5): 485-493.]
- [11] Fang R, Liang X F, Yang Y H, et al. Association of polymorphism detection of SNPs in exon 7 of pepsinogen(PEP) and feeding behavior domestication in *Siniperca chuatsi*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, 18(5): 992-999. [方荣, 梁旭方, 杨宇晖, 等. 鳊胃蛋白酶基因外显子 7 上 SNP 检测及其与食性驯化相关分析[J]. *中国水产科学*, 2011, 18(5): 992-999.]
- [12] Ma D M, Zhu Z M, Bai J J, et al. SNPs in LPL genes and study of their association relationship with the adaptability to formulated feed in *Micropterus salmoides*[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2018, 26(1): 140-149. [马冬梅, 朱择敏, 白俊杰, 等. 大口黑鲈 LPL 基因 SNPs 及其与适应人工配合饲料能力的相关性研究[J]. *农业生物技术学报*, 2018, 26(1): 140-149.]
- [13] Ma D M, Quan Y C, Fan J J, et al. Development of SNPs related to bait domestication based on largemouth bass (*Micropterus salmoides*) transcriptome and association analysis with growth traits[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(11): 1684-1692. [马冬梅, 全迎春, 樊佳佳, 等. 基于转录组测序的大口黑鲈驯食相关 SNP 开发及其与生长性状的关联分析[J]. *水产学报*, 2018, 42(11): 1684-1692.]
- [14] Fishery and Fishery Administration of the Ministry of Agriculture and Rural Areas, National Aquatic Technology Promotion Terminal, China Society of Fisheries. 2021 China Fishery Statistics Yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2021: 25. [农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2021 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 25.]

- [15] Bai J J, Li S J. Genetic Breeding and Molecular Marker-Assisted Selective Breeding of Largemouth Bass[M]. Beijing: Academic Press by Elsevier, 2019, 89-109.
- [16] Zhao L, Li S J, Bai J J, et al. Transfer food from zooplankton to formulated feed in juvenile selectively bred largemouth bass *Micropterus salmoides*[J]. Fisheries Science, 2019, 38(6): 846-850. [赵萃, 李胜杰, 白俊杰, 等. 大口黑鲈选育群体幼鱼转食配合饲料的驯食研究[J]. 水产科学, 2019, 38(6): 846-850.]
- [17] Li S J, Liu H, Bai J J, et al. Transcriptome assembly and identification of genes and SNPs associated with growth traits in largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. Genetica, 2017, 145(2): 175-187.
- [18] Bolger A M, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data[J]. Bioinformatics, 2014, 30(15): 2114-2120.
- [19] Kim D, Langmead B, Salzberg S L. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements[J]. Nature Methods, 2015, 12(4): 357-360.
- [20] Langmead B. Aligning short sequencing reads with bowtie[J]. Current Protocols in Bioinformatics, 2010, 32(1): 11.7.1-11.7.14.
- [21] Trapnell C, Williams B A, Pertea G, et al. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation[J]. Nature Biotechnology, 2010, 28(5): 511-515.
- [22] Love M I, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. Genome Biology, 2014, 15(12): 550.
- [23] McKenna A, Hanna M, Banks E, et al. The Genome Analysis Toolkit: A MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data[J]. Genome Research, 2010, 20(9): 1297-1303.
- [24] Cahill G M. Clock mechanisms in zebrafish[J]. Cell and Tissue Research, 2002, 309(1): 27-34.
- [25] Sánchez-Vázquez F J, Tabata M. Circadian rhythms of demand-feeding and locomotor activity in rainbow trout[J]. Journal of Fish Biology, 1998, 52(2): 255-267.
- [26] Steven M R, David R W. Coordination of circadian timing in mammals[Review][J]. Nature, 2002, 418: 935-941.
- [27] Vitaterna M H, Shimomura K, Jiang P. Genetics of circadian rhythms[J]. Neurologic Clinics, 2019, 37(3): 487-504.
- [28] Preitner N, Damiola F, Luis-Lopez-Molina, et al. The orphan nuclear receptor REV-ERB α controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator[J]. Cell, 2002, 110(2): 251-260.
- [29] Kobayashi H, Oishi K, Hanai S J, et al. Effect of feeding on peripheral circadian rhythms and behaviour in mammals[J]. Genes to Cells, 2004, 9(9): 857-864.
- [30] Carvalho P S M, Noltie D B, Tillitt D E. Biochemical, histological and behavioural aspects of visual function during early development of rainbow trout[J]. Journal of Fish Biology, 2004, 64(4): 833-850.
- [31] Okada T, Palczewski K. Crystal structure of rhodopsin: Implications for vision and beyond[J]. Current Opinion in Structural Biology, 2001, 11(4): 420-426.
- [32] He S, You J J, Liang X F, et al. Transcriptome sequencing and metabolome analysis of food habits domestication from live prey fish to artificial diets in mandarin fish (*Siniperca chuatsi*)[J]. BMC Genomics, 2021, 22(1): 129.
- [33] Lhor M, Salesse C. Retinol dehydrogenases: Membrane-bound enzymes for the visual function[J]. Biochemistry and Cell Biology, 2014, 92(6): 510-523.
- [34] Chen C H, Thompson D A, Koutalos Y. Reduction of all-trans-retinal in vertebrate rod photoreceptors requires the combined action of RDH8 and RDH12[J]. Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(29): 24662-24670.
- [35] Lucas K A, Pitari G M, Kazeronian S, et al. Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP[J]. Pharmacological Reviews, 2000, 52(3): 375-414.
- [36] Calvert P D, Ho T W, LeFebvre Y M, et al. Onset of feedback reactions underlying vertebrate rod photoreceptor light adaptation[J]. The Journal of General Physiology, 1998, 111(1): 39-51.
- [37] Liang X F, Kiu J K, Huang B Y. The role of sense organs in the feeding behaviour of Chinese perch[J]. Journal of Fish Biology, 1998, 52(5): 1058-1067.
- [38] Zhang R Q, Hao Y Y, Song Y D, et al. Predation behavior of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) regulated by visual and lateral line sensory[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(10): 1136-1144. [张瑞祺, 郝月月, 宋银都, 等. 鳊视觉和侧线感觉调控捕食行为的动态观察[J]. 中国水产科学, 2020, 27(10): 1136-1144.]
- [39] Wilkie G S, Dickson K S, Gray N K. Regulation of mRNA translation by 5'- and 3'-UTR-binding factors[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2003, 28(4): 182-188.
- [40] Maeda A, Maeda T, Imanishi Y, et al. Retinol dehydrogenase (RDH12) protects photoreceptors from light-induced degeneration in mice[J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(49): 37697-37704.
- [41] Tian J, He G, Mai K S, et al. Appetite regulation in fishes[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(4): 984-998. [田娟, 何良, 麦康森, 等. 鱼类食欲调控研究进展[J]. 动物营养学报, 2016, 28(4): 984-998.]

- [42] Copps K D, White M F. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2[J]. *Diabetologia*, 2012, 55(10): 2565-2582.
- [43] Zhuo M Q, Pan Y X, Wu K, et al. IRS1 and IRS2: Molecular characterization, tissue expression and transcriptional regulation by insulin in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2017, 43(2): 619-630.
- [44] Lee J, Kim M S. The role of GSK₃ in glucose homeostasis and the development of insulin resistance[J]. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2007, 77(3): S49-S57.
- [45] McManus E J, Sakamoto K, Armit L J, et al. Role that phosphorylation of GSK₃ plays in insulin and Wnt signalling defined by knockin analysis[J]. *The EMBO Journal*, 2005, 24(8): 1571-1583.
- [46] Klok M D, Jakobsdottir S, Drent M L. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: A review[J]. *Obesity Reviews*, 2007, 8(1): 21-34.
- [47] He S, Liang X F, Li L, et al. Gene structure and expression of leptin in Chinese perch[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2013, 194: 183-188.
- [48] Ma F J, Yin D H, Fang D, et al. Insights into response to food intake in anadromous *Coilia nasus* through stomach transcriptome analysis[J]. *Aquaculture Research*, 2020, 51(7): 2799-2812.
- [49] Zorn A M. Development of the digestive system[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2017, 66: 1-2.
- [50] Kuhre R E, Wewer Albrechtsen N J, Larsen O, et al. Bile acids are important direct and indirect regulators of the secretion of appetite- and metabolism-regulating hormones from the gut and pancreas[J]. *Molecular Metabolism*, 2018, 11: 84-95.
- [51] Wei L, Li Y, Ye H Z, et al. Dietary trivalent chromium exposure up-regulates lipid metabolism in coral trout: The evidence from transcriptome analysis[J]. *Frontiers in Physiology*, 2021, 12: 640898.
- [52] Ma R, Liu X H, Meng Y Q, et al. Protein nutrition on sub-adult triploid rainbow trout (1): Dietary requirement and effect on anti-oxidative capacity, protein digestion and absorption[J]. *Aquaculture*, 2019, 507: 428-434.
- [53] García-Meilán I, Ordóñez-Grande B, Valentín J M, et al. High dietary carbohydrate inclusion by both protein and lipid replacement in gilthead sea bream. Changes in digestive and absorptive processes[J]. *Aquaculture*, 2020, 520: 734977.
- [54] Chandra R, Liddle R A. Recent advances in the regulation of pancreatic secretion[J]. *Current Opinion in Gastroenterology*, 2014, 30(5): 490-494.
- [55] Borgström B. Digestion and absorption of fat[J]. *Gastroenterology*, 1962, 43(2): 216-219.
- [56] Stieger B, Meier Y, Meier P J. The bile salt export pump[J]. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 2007, 453(5): 611-620.
- [57] Ren T Q, Pang L W, Dai W L, et al. Regulatory mechanisms of the bile salt export pump (BSEP/ABCB11) and its role in related diseases[J]. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 2021, 45(6): 101641.

Development of genes and SNP markers related to food domestication based on largemouth bass transcriptome

SHAO Jiaqi^{1,2}, DU Jinxing², LEI Caixia², LI Shengjie², DONG Chuanju¹, ZHANG Meng¹, LI Xuejun¹

1. College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;

2. Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application & Cultivation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China

Abstract: Artificial domestication of feeding habits of carnivorous fish is a key step in their breeding and production, and the molecular mechanism of food domestication is poorly understood. In this study, a new strain of largemouth bass (*Micropterus salmoides*), “Youlu No. 3”, was used as the research object, and transcriptome sequencing of the brain and liver tissues from a domesticated and non-domesticated group was performed to obtain genes and markers related to food domestication. In total, 51255 million high-quality clean reads were obtained and mapped to 27930 genes. The results showed that there were 362 and 3389 differentially expressed genes in the brain and liver tissues, respectively. The 64 genes involved in food domestication regulation, such as period (*PERs*), rhodopsin (*RHO*), retinol dehydrogenase (*RDHs*), squalene monooxygenase (*SQLE*), bile salt export pump (*BSEP*), and leptin (*LEP*), were mainly distributed in circadian rhythm, phototransduction, retinol metabolism, steroid biosynthesis, bile secretion, and the PI3K-AKT signaling pathways. These pathways play an important role in environmental adaptation, visual system function, digestion and metabolism, and appetite control. Furthermore, 21465 SNP markers were screened from the differentially expressed genes in the non-domesticated group and domesticated group. The SNaPshot technique was used to verify the 14 SNP markers that were randomly selected, and their association with food domestication was analyzed. The results showed that only the *chr15-A+8322808* marker in the *RDH12* gene was found to be significantly associated with domestication traits ($P < 0.05$), and its AA genotype was the dominant genotype in easily domesticated individuals. Overall, 64 differentially expressed genes and one SNP marker related to food domestication traits were obtained, providing candidate genes and a molecular marker for the molecular marker-assisted breeding research of domestication traits of largemouth bass.

Key words: *Micropterus salmoides*; domestication traits; transcriptome sequencing; differentially expressed genes; single nucleotide polymorphism

Corresponding author: LI Shengjie. E-mail: ssjli@163.com