

DOI: 10.12264/JFSC2025-0191

## 杂交鳢与斑鳢早期发育的比较转录组分析及生长优势关键基因的筛选

刘佳骏<sup>1,2</sup>, 罗青<sup>2</sup>, 刘海洋<sup>2</sup>, 刘嘉峰<sup>2</sup>, 欧密<sup>2</sup>, 费树站<sup>2</sup>, 陈建华<sup>1\*</sup>, 赵建<sup>2</sup>

1. 江苏海洋大学海洋科学与水产学院, 江苏省海洋生物技术重点实验室, 江苏 连云港 222005;

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种质资源利用与养殖重点实验室, 广东 广州 510380

**摘要:** 本研究利用高通量 RNA 测序技术, 对斑鳢(*Channa maculata*)和杂交鳢(*C. maculata* ♀ × *C. argus* ♂)在 13 dph 和 43 dph 两个关键早期阶段的全鱼和肌肉组织转录组进行了比较分析, 旨在揭示杂交鳢早期生长优势的分子机制。结果显示, 在 13 dph 阶段, 共鉴定到 721 个 DEGs, 包括 427 个上调基因和 294 个下调基因; 在 43 dph 阶段, 鉴定出 385 个 DEGs, 包括 168 个上调基因和 217 个下调基因, 两个时期共有 23 个重叠的 DEGs。GO 功能富集分析显示, DEGs 主要富集于细胞过程、代谢过程、生物调控和发育过程。KEGG 通路富集分析表明, 13 dph 阶段的 DEGs 主要与胆固醇代谢和能量生成相关, 43 dph 阶段则主要富集于脂质代谢、碳水化合物代谢和信号转导通路。通过整合功能注释和 PPI 网络分析及 qPCR 验证, 本研究鉴定出 10 个在杂交鳢生长优势中可能发挥核心作用的候选基因(*npv*、*slc25a5*、*ugp2*、*obscn*、*ache*、*coro1ca*、*tuba*、*lmod2*、*nr4a1*、*trim33*)。这些基因主要参与神经递质调控、摄食行为、肌肉发育及能量代谢等关键生物学过程。本研究从转录组层面阐释了杂交鳢生长优势的分子基础, 为深入解析杂种优势的分子调控网络奠定了基础, 并为水产动物的分子育种提供了重要的理论依据和候选基因靶点。

**关键词:** 斑鳢; 杂交鳢; 早期发育; 转录组; 肌肉; 杂交优势

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2025)12-1717-17

随着全球水产养殖业的快速发展以及市场对优质水产品需求的日益增长, 杂交育种已成为提升鱼类养殖效益和优化种质资源的核心策略之一。该技术通过整合不同物种的优良特性, 旨在培育出生长迅速、抗病能力强、环境适应性优异的新品种, 从而显著提高了多种经济鱼类的养殖产量和经济效益<sup>[1-6]</sup>。其中, 杂交鳢(*Channa maculata* × *C. argus*)即是通过杂交育种方法显著改善养殖性能的代表性淡水经济鱼类。

杂交鳢有效融合了双亲的优良性状<sup>[7]</sup>, 与亲本斑鳢(*C. maculata*)和乌鳢(*C. argus*)相比, 在生

长速度、抗寒能力以及饲料转化效率上均表现出显著的杂交优势<sup>[8-9]</sup>。尽管已有研究对杂交鳢的形态学、生长性能及基础生理生化指标进行了广泛报道<sup>[10]</sup>, 但其杂交优势形成的具体机制, 特别是基因表达层面和调控网络的深层解析, 尚未得到充分阐明, 这限制了对其优良性状的精确理解与定向改良。

转录组学作为功能基因组学的重要技术, 能够全面解析特定时空条件下基因表达的动态图谱, 为揭示复杂生物学过程的分子机制提供强有力工具<sup>[11]</sup>, 在水产动物中, 通过比较杂交后代与亲本的

收稿日期: 2025-06-18; 修订日期: 2025-08-27.

基金项目: 国家现代农业产业技术体系资助项目(CARS-46); 广东省基础与应用基础研究基金项目(2024A1515030165).

作者简介: 刘佳骏, 男, 硕士研究生, 研究方向为鱼类繁殖与遗传育种. E-mail: 1584032218@qq.com

\*通信作者: 陈建华, 正高级实验师, 研究方向为水产动物繁育及健康养殖. E-mail: chenjianhuazsu@163.com

转录组,已成功在罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)<sup>[12]</sup>、鲤(*Cyprinus carpio*)<sup>[13]</sup>、草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)<sup>[14]</sup>、鳊(*Siniperca chuatsi*)<sup>[15]</sup>、大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)<sup>[16]</sup>和长吻鮠(*Leiocassis longirostris*)<sup>[17]</sup>等多个物种中,鉴定出与生长、代谢和免疫等关键性状相关的基因和调控通路。这些研究证实,转录组分析是揭示杂交优势分子基础的有效途径,为本研究提供了坚实的理论基础和方法学参考。

肌肉是鱼类的主要可食用组织,其生长是衡量养殖动物生产性能的核心指标<sup>[18]</sup>。鱼类肌肉的生长是一个涉及细胞增殖分化、蛋白质合成、能量代谢和内分泌调控的复杂过程,其中以胰岛素样生长因子(insulin like growth factor, IGF)轴为代表的信号通路扮演着核心调控角色<sup>[19,20]</sup>。利用转录组学技术,研究人员在鲤<sup>[21]</sup>、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)<sup>[22]</sup>和鳊<sup>[23]</sup>等鱼类中,成功挖掘出调控生长优势的关键基因与通路。因此,对肌肉组织进行转录组分析是解析杂交鳊生长优势分子机制的理想切入点。

本研究运用高通量 RNA 测序技术,旨在解析杂交鳊生长优势的分子调控网络。为此,我们比较了杂交鳊与斑鳊在两个关键早期发育时期,即 13 dph (孵化后天数, days post-hatch) 全鱼和 43 dph 的肌肉组织转录组。这两个时间点的选取紧密围绕水产养殖中从活体饵料到人工配合饲料转换的关键环节: 13 dph 处于鱼苗完全依赖活体饵料、尚未接触人工饲料的阶段,其转录组数据能反映由遗传决定的生理基础状态,有助于揭示杂交鳊是否存在先天的发育优势。43 dph 则在鱼苗完成对人工配合饲料的适应之后,其转录组数据能揭示两种鳊在消化吸收、营养代谢和肌肉生长等方面对人工饲料的长期响应差异,是阐明杂交鳊高效利用饲料实现快速生长分子机制的关键。通过对这两个时期基因表达谱、功能通路等方面的差异分析,本研究旨在筛选并鉴定核心候选基因。研究结果将为揭示鳊科鱼类杂种优势的形成机理提供新见解,并为分子辅助育种提供重要的参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

亲本斑鳊和乌鳊均由广东省肇庆市百晟源水产良种有限公司提供。通过人工控制配对繁殖,获得了两个品系: 纯种斑鳊(*C. maculata* ♀×*C. maculata* ♂, 记为 BB)和杂交鳊(*C. maculata* ♀×*C. argus* ♂, 记为 BW)。实验鱼在孵化后即被转移至 250 L 养殖水箱中暂养,养殖条件均严格控制在以下范围: 水温(26±1) °C, pH 7.0~7.5, 溶解氧浓度≥6.0 mg/L, 氨氮浓度<0.5 mg/L, 亚硝态氮浓度<0.05 mg/L。光照周期设定为 12 h 光照与 12 h 黑暗。实验鱼每日 8:00 和 17:00 按体重的 3%~5% 投喂商品饲料(购买自珠海海龙)。

### 1.2 样品采集

本研究选取 13 dph 和 43 dph 两个时间节点进行取样,在 13 dph 时随机选取健康的斑鳊和杂交鳊鱼苗各 9 尾,分为 3 个生物学重复组,采集全鱼样本。实验鱼经 MS-222 麻醉后,立即置于液氮中速冻,随后转移至-80 °C 冰箱保存备用。在 43 dph 时,同样随机选取健康的斑鳊和杂交鳊鱼苗各 9 尾,分为 3 个生物学重复组。实验鱼经 MS-222 麻醉后,在无菌条件下迅速解剖并取其背部肌肉组织,立即置于液氮中速冻,随后转至-80 °C 冰箱保存备用。

### 1.3 RNA 分离、cDNA 文库构建和测序

使用 TRIzol 试剂(Invitrogen, 美国)从 13 dph 的全鱼样本和 43 dph 的肌肉组织中提取总 RNA。提取的总 RNA 质量通过 Agilent 2100 生物分析仪(Agilent Technologies, 美国)及无 RNase 琼脂糖凝胶电泳进行评估。随后通过 Oligo(dT) 磁珠富集总 RNA 中的 mRNA,并使用片段化缓冲液将富集得到的 mRNA 进行片段化处理。之后,以 NEBNext Ultra RNA 文库制备试剂盒(NEB #7530, 美国)将片段化 mRNA 逆转录为 cDNA。生成的 cDNA 经末端修复、接头连接和 PCR 扩增后,构建用于后续测序的文库。最终构建的测序文库由广州基迪奥生物科技有限公司在 Illumina Novaseq 6000 平台进行双端测序。

#### 1.4 转录组组装与注释

为获得高质量读段(clean reads), 首先使用 fastp 软件(版本 0.18.0)对原始读段(raw reads)进行质控, 包括去除含接头(adapter)的、含 N 比例大于 10%的、全部由 A 碱基组成的以及含 50%以上质量值  $Q \leq 20$  的 reads<sup>[24]</sup>。随后, 评估处理后 clean reads 的 Q20、Q30 和 GC 含量。质控合格的 clean reads 使用 HISAT2 软件, 与 *C. maculata* 参考基因组(GCA\_020496755.1)进行比对<sup>[25]</sup>。每个样品的映射读段(mapped reads)利用 StringTie 软件(版本 v1.3.1)通过基于参考基因组的方法进行组装, 并据此定量基因丰度。

#### 1.5 基因表达水平与差异分析

对于每个转录区域<sup>[26]</sup>, 使用 RSEM 软件计算 FPKM (fragments per kilobase of transcript per million mapped reads)值, 以量化其表达丰度和变化<sup>[27]</sup>。为评价实验结果的可靠性和操作稳定性, 对样本间的数据进行相关性分析, 并计算相关系数。使用 R 软件包 prcomp (<http://www.r-project.org/>)进行主成分分析(principal component analysis, PCA), 以揭示不同处理组间的关联性。利用 DESeq2 软件在两个不同组别间进行差异表达基因分析<sup>[28]</sup>。

#### 1.6 富集分析

根据  $|\log_2(\text{Fold Change})| \geq 1$  且 FDR (false discovery rate, 错误发现率) $< 0.05$  鉴定差异表达基因和转录本。在 GO 分析中<sup>[29]</sup>, 所有差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)均被映射到基因本体数据库(<http://www.geneontology.org/>) GO 术语中。此映射过程通过 Goseq 软件完成。随后, 确定在每个 GO 术语中, 与基因组背景相比表现出显著富集的 DEGs 数量。富集的显著性通过使用超几何检验进行判定。DEGs 相关的信号通路则通过 KEGG 数据库进行分析<sup>[30]</sup>。KOBAS 软件用于评估 DEGs 在 KEGG 通路中的统计学富集程度。 $P$  值经过 FDR 校正, 并以  $FDR \leq 0.05$  作为显著富集的阈值。

#### 1.7 蛋白质互作(protein-protein interaction, PPI)网络的构建

为探究 DEGs 编码蛋白间的相互作用关系,

本研究利用在线数据库 STRING (<https://string-db.org/>)构建 PPI 网络。将筛选出的 DEGs 列表提交至 STRING 数据库, 并采用中等置信度(medium confidence score  $> 0.4$ )作为最低互作阈值。通过对网络拓扑结构的分析, 鉴定出连接度排名靠前的蛋白质作为核心蛋白(Hub-proteins)。

#### 1.8 实时荧光 qPCR 验证

为验证转录组测序结果的可靠性, 根据基因在转录组分析中的表达水平及其在 KEGG 通路中的参与度, 筛选了 10 个候选基因进行 qPCR 验证。选用  $\beta$ -actin 作为内参基因, 并预先通过实验确认了其在不同样本间的表达稳定性。qPCR 引物(表 1)通过 NCBI Primer 设计。qPCR 反应在 Applied Biosystem 7300 实时荧光定量 PCR 仪上进行, 使用 SYBR Green PCR Master Mix (Roche, San Diego, 美国)。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列  
Tab. 1 Primer sequence of real-time quantitative PCR

引物名称 primer name	引物序列(5'-3') primer sequence (5'-3')
<i>ache</i> -F	GAGGTGCTGCTTGGCATAAA
<i>ache</i> -R	CATCGCTCCAGTCTGTGTACTG
<i>obscn</i> -F	ACTGATGAGGATGGATTGATGGA
<i>obscn</i> -R	GTGCTCTGCATGAAATGGGC
<i>npv</i> -F	AGGCAGAGGTATGGGAAGAGA
<i>npv</i> -R	ATCTTGACTGTGGAAGCGTGT
<i>coro1ca</i> -F	TGTAGCAAGTTCGGCTCTGAC
<i>coro1ca</i> -R	TTTTCTGTTGCCTGAAGCC
<i>slc25a5</i> -F	GGTAACCTGGCATCTGGTGG
<i>slc25a5</i> -R	TCACCAAGCAATCTCCCAGG
<i>ugp2</i> -F	TCGATCCAGCCCTACGAGAA
<i>ugp2</i> -R	AGTTTGACCACAGCGAGCTT
<i>tuba</i> -F	ACGTTCCAAGAGCCATCTTCA
<i>tuba</i> -R	AGCGTCTCCTTCCCTGTAA
<i>lmod2</i> -F	CTGTGCTCAGCAGACATTGC
<i>lmod2</i> -R	AGGGGTCAGTCTCACAGGAT
<i>nr4a1</i> -F	TACAGGTTGGCCTCCATAA
<i>nr4a1</i> -R	ATGGAGTCGATCCAGTCACC
<i>trim33</i> -F	CCAAGGGAAATCAACTGAAGAAG
<i>trim33</i> -R	CTATAAGATGTTGAACACGCTCCT
$\beta$ -actin-F	GCAAGCAGGAGTATGATGAG
$\beta$ -actin-R	TTGGGATTGTTTCAGTCAGT

注: F 代表正向引物; R 代表反向引物。

Note: F represents the forward primer; R represents the reverse primer.

qPCR 反应体系 20  $\mu\text{L}$ : 含 10  $\mu\text{L}$  SYBR Green qPCR 预混液、1  $\mu\text{L}$  cDNA 模板、0.8  $\mu\text{L}$  正反向引物和 7.4  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O。qPCR 反应条件为: 95  $^{\circ}\text{C}$  60 s, 随后 45 个循环的扩增, 每个循环包括 95  $^{\circ}\text{C}$  10 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  10 s, 70  $^{\circ}\text{C}$  10 s。基因相对表达量以  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算, 每个样本设置 3 个技术重复和 3 个生物学重复。通过熔解曲线分析验证 RT-qPCR 产物扩增的特异性。数据以 GraphPad Prism 软件(版本 9.5)进行统计分析, 并通过  $t$  检验比较组间差异, 以  $P < 0.05$  为差异显著性判断标准。

## 2 结果与分析

### 2.1 转录组数据质量

对斑鳢和杂交鳢在 13 dph 和 43 dph 肌肉组织的 12 个样本进行转录组测序, 分别获得 246496842 和 253582362 条 clean reads。经质控评估, 所有样本的 Q20 百分比均高于 97.72%, Q30 百分比均高于 93.76%, GC 含量在 46.68%至 50.23%之间, 无明显 GC/AT 偏好性。各样品的参考基因组比对率在 68.73%至 95.90%之间(表 2)。以上数据表明, 本次测序数据质量高, 结果可靠, 可用于后续的差异表达分析。

### 2.2 主成分分析

PCA 结果显示, 不同实验组的样本在转录组表达谱上存在显著差异(图 1)。在 13 dph, 第一主成分(PC1)解释了 54.70%的总变异, 并能将 BB 组和 BW 组的样本有效区分开(图 1a); 在 43 dph, PC1 的解释度增至 88.80%, 同样实现了两组样本的清晰分离(图 1b)。所有组内的生物学重复样本均紧密聚类, 表明实验重复性良好, 且组间差异显著大于组内差异, 为后续分析奠定了基础。

### 2.3 差异表达分析

以  $|\log_2(\text{Fold Change})| \geq 1$  且  $\text{FDR} < 0.05$  为筛选标准, 在杂交鳢相对于斑鳢的比较中, 在 13 dph 时期, 共鉴定出 721 个 DEGs, 其中 427 个基因上调, 294 个基因下调(图 2a), 在 43 dph 时期, 共鉴定出 385 个 DEGs, 其中 168 个基因上调, 217 个基因下调(图 2b)。韦恩图(Venn diagram)分析结果(图 2c)显示, 23 个 DEGs (*vtcn1*、*npv*、*inip*、*trim33*、*tnfaip2-like*、*nr4a1*、*ugp2*、*lyg2*、*ache*、*c5ar1obscn*、*dusp22b*、*asb14*、*tuba*、*slc25a5*、*aldob*、*coro1ca*、*ccl1*、*cmac\_lg19g005800*、*sult1c1*、*mki67*、*bcl2l14*、*lmod2*)均存在于两个发育时期中。

聚类热图(heatmap)(图 3)展示了 DEGs 在不同

表 2 斑鳢与杂交鳢在 13 dph 和 43 dph 的转录组测序数据质量评估统计

Tab. 2 Quality assessment statistics of transcriptome sequencing data of *Channa maculata* and hybrid snakehead (*C. maculata*♀×*C. argus*♂) at 13 dph and 43 dph

样本名称 sample name	原始序列 raw reads	有效序列 clean reads	Q20/%	Q30/%	GC 含量/% GC percent	比对率/% mapping rate
BB1	6136029300	5801697622	97.72	93.96	48.03	68.73
BB2	7203779700	6816666991	97.73	93.76	46.84	71.43
BB3	6310743600	5862141434	97.90	94.31	47.40	73.20
BW1	5458605300	5088813244	97.88	94.32	47.10	78.99
BW2	6212462100	5760262234	97.85	94.28	46.77	75.61
BW3	6084906300	5711377974	97.94	94.38	46.68	71.98
BB-M1	6317637600	6261623230	98.27	94.87	50.04	95.50
BB-M2	6640637100	6568208044	98.22	94.75	50.23	95.79
BB-M3	6371246700	6320321899	98.10	94.39	49.77	95.90
BW-M1	6760873800	6698188076	98.19	94.65	50.04	92.55
BW-M2	6406542000	6339710553	98.16	94.58	49.90	91.88
BW-M3	6788083500	6728601465	98.25	94.84	50.08	92.24

注: BB 和 BW 分别代表 13 dph 的斑鳢和杂交鳢全鱼样本; BB-M 和 BW-M 分别代表 43 dph 的斑鳢和杂交鳢肌肉组织样本。

Note: BB and BW represent whole-body samples from *C. maculata* and the hybrid snakehead at 13 dph, respectively; BB-M and BW-M represent muscle tissue samples from *C. maculata* and hybrid snakehead at 43 dph, respectively.

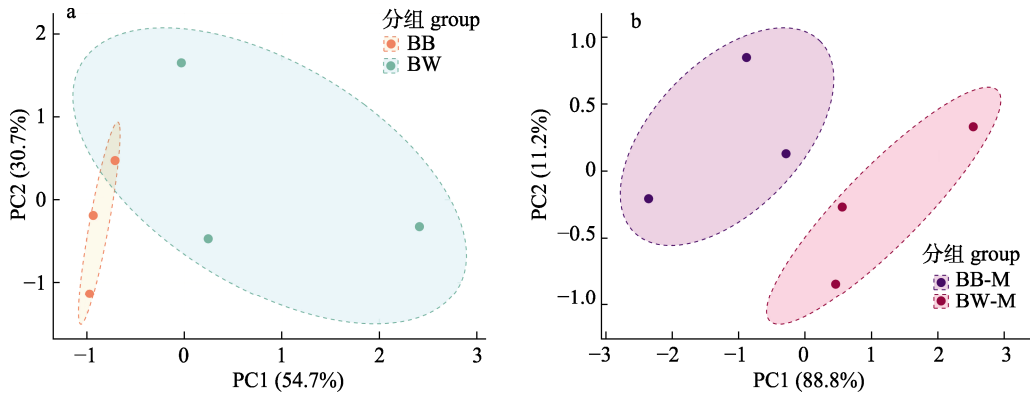


图 1 斑鳢与杂交鳢转录组主成分分析结果

a. 13 dph 全鱼样本的 PCA 分析; b. 43 dph 肌肉组织样本的 PCA 分析.

Fig. 1 Principal component analysis (PCA) of transcriptomes from *Channa maculata* and hybrid snakehead (*C. maculata*♀×*C. argus*♂)

a. PCA of whole-body samples at 13 dph; b. PCA of muscle tissue samples at 43 dph.

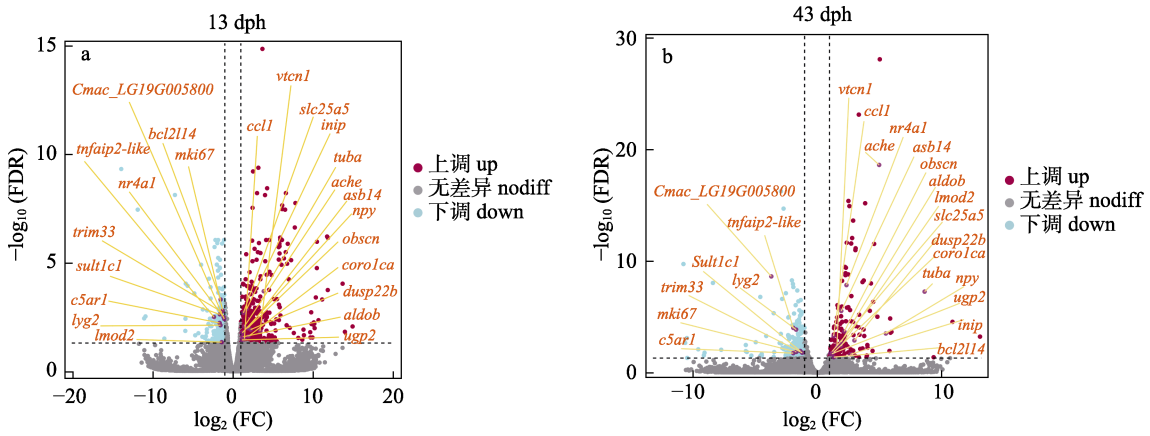
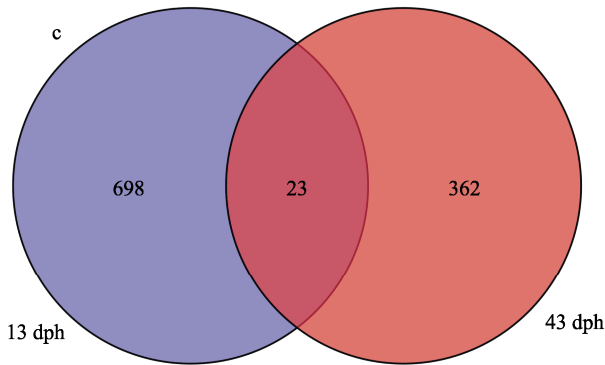


图 2 斑鳢与杂交鳢在不同发育阶段的 DEGs 分析

a. 13 dph 阶段的 DEGs 火山图; b. 43 dph 阶段的 DEGs 火山图; c. 两个阶段共有 DEGs 的韦恩图.

Fig. 2 DEG analysis between *Channa maculata* and hybrid snakehead (*C. maculata*♀×*C. argus*♂) at different developmental stages

a. Volcano plot of DEGs at the 13 dph stage; b. Volcano plot of DEGs at the 43 dph stage; c. Venn diagram of common DEGs between the two stages.



组别间的表达模式。无论是在 13 dph 还是 43 dph, BB 和 BW 组呈现出鲜明的组间表达差异和优良的组内表达一致性。

### 2.4 两个时期共有差异基因的分析

为了研究斑鳢与杂交鳢各发育时期的共性分子调控机制, 将 13 dph 和 43 dph 两个时期共有的

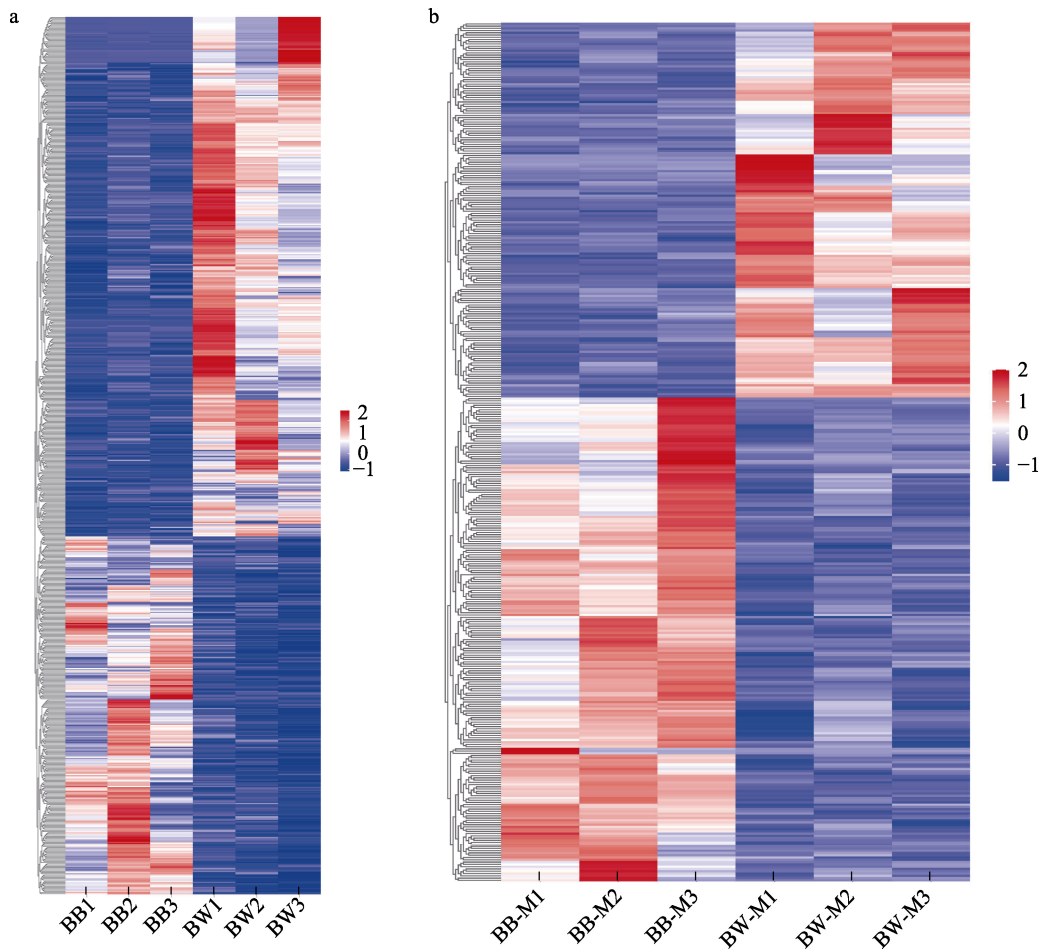


图 3 斑鳢与杂交鳢在两个发育阶段的差异表达基因聚类热图

a. 13 dph 阶段的 DEGs 表达热图; b. 43 dph 阶段的 DEGs 表达热图.

Fig. 3 Heatmap clustering of differentially expressed genes between *Channa maculata* and hybrid snakehead (*C. maculata*♀×*C. argus*♂) at two developmental stages  
a. Heatmap of DEGs at the 13 dph stage; b. Heatmap of DEGs at the 43 dph stage.

23 个 DEGs 进行分析热图聚类分析(图 4)。结果发现其表达模式具有明显的发育阶段特异性。在 13 dph 时(图 4a), BW 组中的 *npv*、*ugp2*、*ache* 等基因的表达水平高于 BB 组, 而 *bcl2114*、*nr4a1* 等基因则在 BB 组中高表达。值得注意的是, 至 43 dph 时期(图 4b), 部分基因的表达趋势发生了转变, *lmod2* 和 *nr4a1* 在杂交鳢中的表达由 13 dph 的相对下调转变为显著上调。这种变化表明, 这些共有的 DEGs 在杂交鳢的不同发育时期可能发挥着不同的生物学功能。

## 2.5 DEGs 的 GO 途径富集分析

为了探究斑鳢和杂交鳢在不同发育阶段的转录组学特征及 DEGs 的功能, 13 dph 和 43 dph 样本中显著上调及下调的 DEGs 分别被用于 GO 功

能富集分析(图 5)。

在 13 dph 阶段(图 5a), DEGs 显著富集于 640 个 GO 术语( $P < 0.05$ )。在生物过程(biological process, BP)类别中, 主要富集于细胞过程(cellular process)、代谢过程(metabolic process)和生物调控(biological regulation); 分子功能(molecular function, MF)类别主要富集于结合(binding)和催化活性(catalytic activity); 细胞组分(cellular component, CC)类别则主要富集于细胞解剖实体(cellular anatomical entity)和含蛋白复合物(protein-containing complex)。其中, 上调基因主要与代谢和结合功能相关, 而下调基因更多地参与生物调控和催化活动。

在 43 dph 时期, DEGs 显著富集于 715 个 GO

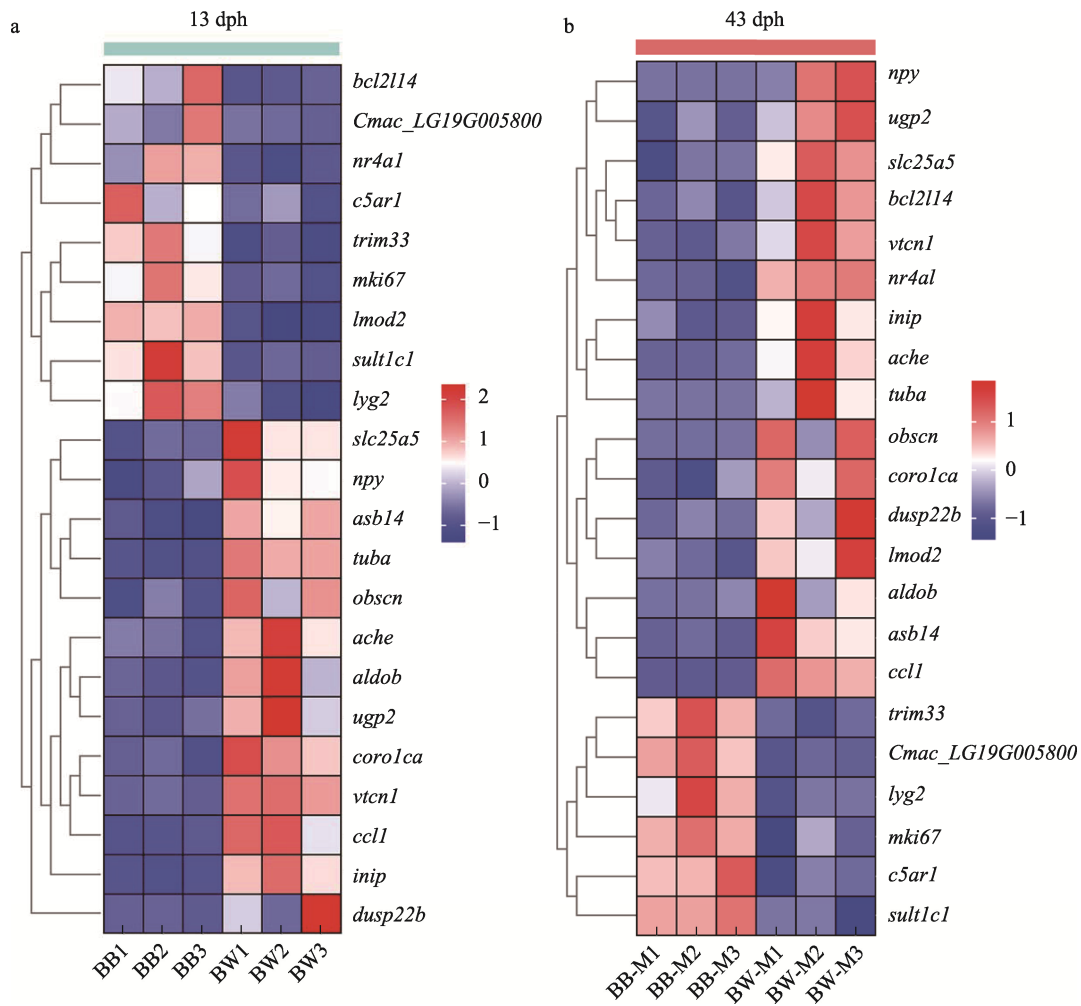


图 4 斑鳢与杂交鳢在两个发育阶段共有的 23 个差异表达基因的表达模式聚类热图

a. 13 dph 时期的表达聚类; b. 43 dph 时期的表达聚类。

Fig. 4 Clustering heatmap of expression patterns for the 23 common differentially expressed genes in *Channa maculata* and hybrid snakehead (*C. maculata*♀×*C. argus*♂) across two developmental stages

a. Clustering at the 13 dph stage; b. Clustering at the 43 dph stage.

术语( $P < 0.05$ ), 富集模式出现明显变化(图 5b)。BP 类别中, 发育过程(developmental process)和多细胞生物过程(multicellular organismal process)的富集程度相对增强。MF 类别中, 转运体活性(transporter activity)成为新的富集热点。CC 类别中, DEGs 与 13 dph 阶段同样多富集于细胞解剖实体(cellular anatomical entity)和含蛋白复合物(protein-containing complex)。此阶段上调基因主要驱动多细胞生物过程和转运体活性, 而下调基因则更多地与发育调控和结合功能相关。

## 2.6 DEGs 的 KEGG 通路富集分析

为深入探究差异表达基因(DEGs)参与的关键信号通路, 经 KEGG 通路富集分析显示(图 6),

在 13 dph 阶段(图 6a), DEGs 显著富集于 30 条 KEGG 通路( $P < 0.05$ )。主要包括集合管酸分泌(collecting duct acid secretion)、突触囊泡循环(synaptic vesicle cycle)、氧化磷酸化(oxidative phosphorylation)和吞噬体(phagosome)等通路。其中, 集合管酸分泌通路显示出最高的基因富集比率和显著性。

在 43 dph 阶段(图 6b), DEGs 显著富集于 24 条 KEGG 通路( $P < 0.05$ ), 主要富集在与代谢和信号转导相关的通路中。其中, 脂肪细胞中的脂肪分解调控(regulation of lipolysis in adipocytes)通路显示出最高的富集比率和显著性。脂肪细胞因子信号通路(adipocytokine signaling pathway)和果糖

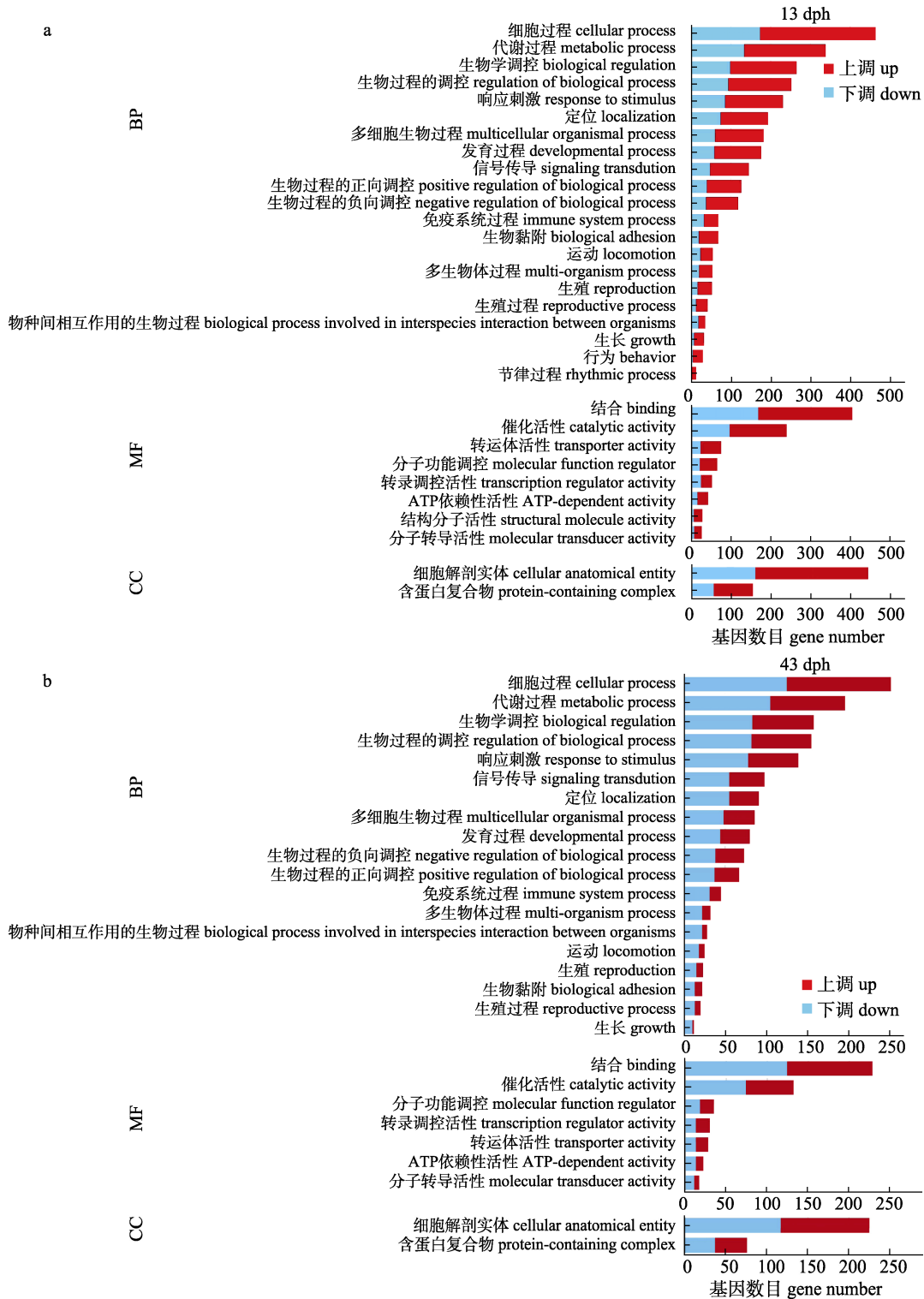


图 5 杂交鳢相对于斑鳢在 13 dph 和 43 dph 阶段的差异表达基因 GO 功能富集分析

a.13 dph 阶段 DEGs 的 GO 富集分析; b.43 dph 阶段 DEGs 的 GO 富集分析.

红色柱状图代表杂交鳢中上调基因富集的 GO 条目, 蓝色柱状图代表下调基因富集的 GO 条目.

Fig. 5 GO functional enrichment analysis of differentially expressed genes in hybrid snakehead (*Channa maculata* ♀×*C. argus* ♂) relative to *C. maculata* at the 13 dph and 43 dph stages

a. GO enrichment analysis of DEGs at the 13 dph stage; b. GO enrichment analysis of DEGs at the 43 dph stage.

Red bars represent GO terms enriched in genes up-regulated in the hybrid snakehead, and blue bars represent those enriched in down-regulated genes.

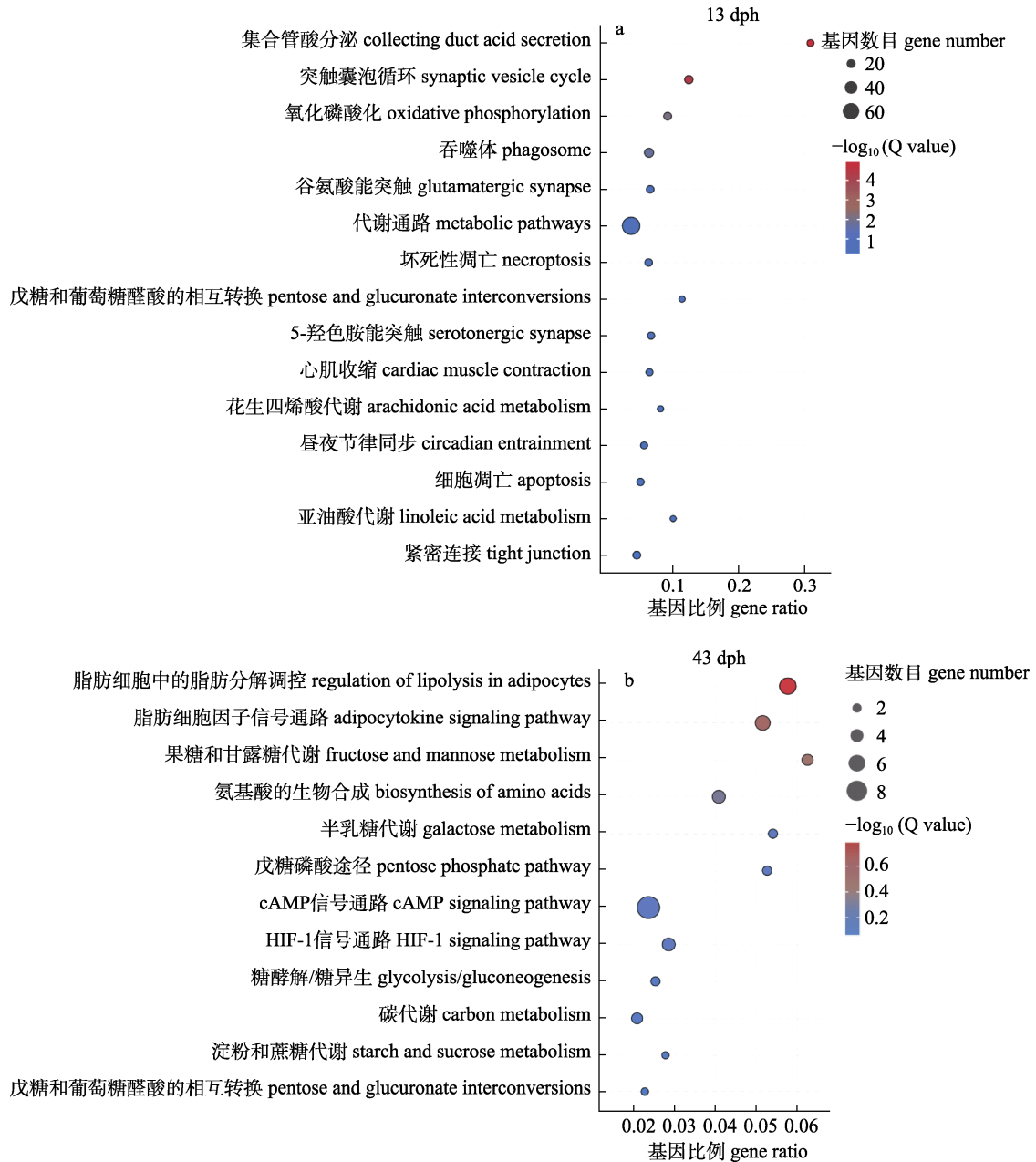


图 6 杂交鳢相对于斑鳢在 13 dph 和 43 dph 阶段的差异表达基因(DEGs)KEGG 通路富集分析

a. 13 dph 阶段 DEGs 显著富集的 KEGG 通路; b. 43 dph 阶段 DEGs 显著富集的 KEGG 通路.

Fig. 6 KEGG pathway enrichment analysis of differentially expressed genes in hybrid snakehead (*Channa maculata* ♀ × *C. argus* ♂) relative to *C. maculata* at 13 dph and 43 dph stages

a. Significantly enriched KEGG pathways for DEGs at the 13 dph stage; b. Significantly enriched KEGG pathways for DEGs at the 43 dph stage.

和甘露糖代谢(fructose and mannose metabolism) 通路也表现出较高的富集程度。此外, 氨基酸生物合成(biosynthesis of amino acids)、半乳糖代谢(galactose metabolism)和戊糖磷酸途径(pentose phosphate pathway)等代谢通路富集明显。信号转导通路方面, cAMP 信号通路(cAMP signaling

pathway)和 HIF-1 信号通路(HIF-1 signaling pathway) 富集基因数量相对较多。

### 2.7 PPI 网络分析

为探究 DEGs 编码蛋白之间的相互作用, STRING 数据库被用于对筛选出的 DEGs 构建蛋白质互作网络。分析结果(图 7)显示, 两个时期的

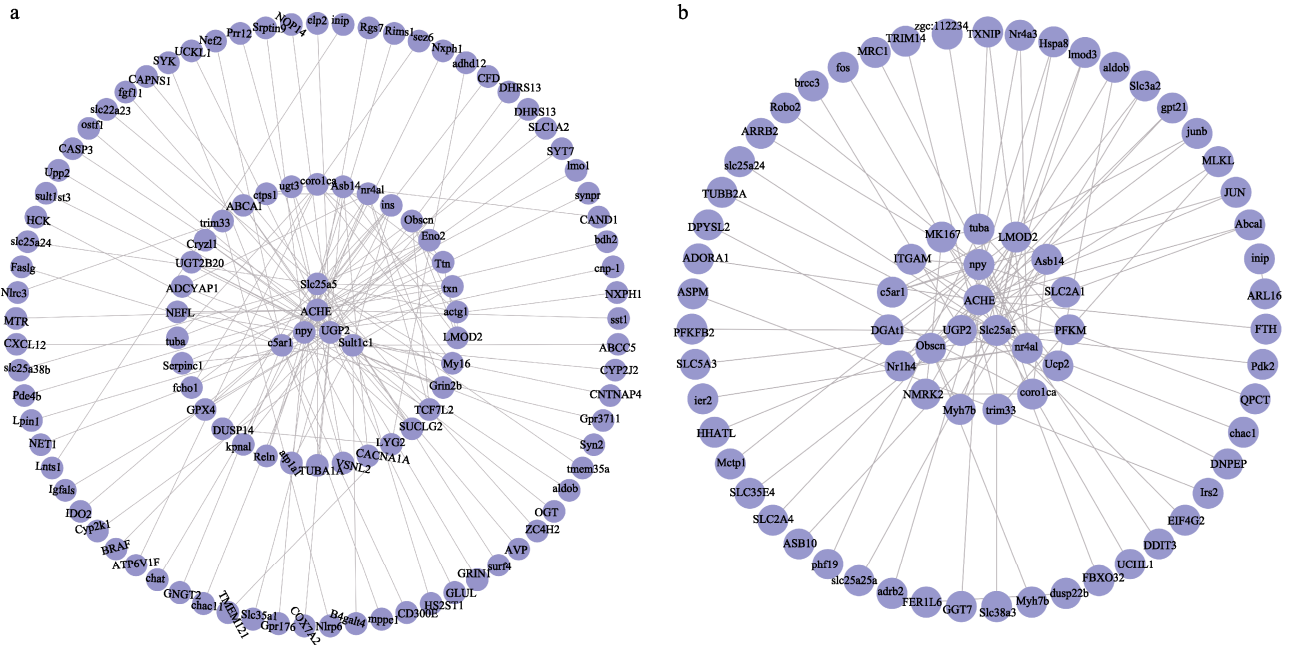


图 7 杂交鳢相对于斑鳢在 13 dph 和 43 dph 阶段差异表达基因的蛋白质互作(PPI)网络  
 a. 13 dph 阶段差异基因的 PPI 网络; b. 43 dph 阶段差异基因的 PPI 网络.

Fig. 7 Protein-protein interaction (PPI) networks of differentially expressed genes identified from the comparison between *Channa maculata* and hybrid snakehead (*C. maculata* ♀×*C. argus* ♂) and at the 13 dph and 43 dph stages  
 a. PPI network of DEGs at the 13 dph stage; b. PPI network of DEGs at the 43 dph stage.

DEGs 均形成了紧密的功能互作模块。通过网络拓扑结构分析, 鉴定出 10 个处于核心节点位置的蛋白(Hub proteins), 包括神经肽 Y (Neuropeptide Y, Npy)、溶质载体家族 25 成员 5 (solute carrier family 25 member 5, Slc25a5)、UDP-葡萄糖焦磷酸化酶 2 (UDP-glucose pyrophosphorylase 2, Ugp2)、遮蔽蛋白肌球蛋白轻链激酶(obscurin, cytoskeletal calmodulin and titin-interacting RhoGEF protein, Obscn)、乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)、冠蛋白 1A (coronin 1A, Coro1ca)、 $\alpha$ -微管蛋白( $\alpha$ -tubulin, Tuba)、平滑肌素 2 (leiomodins 2, Lmod2)、核受体亚家族 4 A 组成员 1 (nuclear receptor subfamily 4 group A member 1, Nr4a1)、三结构域蛋白 33 (tripartite motif containing 33, Trim33)。这 10 个蛋白在网络中处于核心位置, 表现出较高的连接度, 形成了网络中的主要功能节点。

### 2.8 RT-qPCR 验证结果分析

为验证转录组测序结果的可靠性, 10 个核心候选基因(*npy*、*slc25a5*、*ugp2*、*obscn*、*ache*、*coro1ca*、*tuba*、*lmod2*、*nr4a1*、*trim33*)被选取用于 RT-qPCR 检测。结果显示(图 8), 所有 10 个基

因通过 RT-qPCR 测得的相对表达量变化趋势与转录组测序的 FPKM 值变化趋势高度一致。这一结果证实了本研究中转录组测序数据的准确性和可靠性, 表明后续基于这些数据进行的分析是可信的。

## 3 讨论

### 3.1 斑鳢与杂交鳢转录组发育时序特征

本研究通过比较斑鳢和杂交鳢在 13 dph 和 43 dph 两个关键早期发育阶段的转录组, 揭示了杂交鳢的生长优势并非一种静态特性, 而是一个具有显著时序性特征的动态过程。这一动态特征在 PCA 中得到了直观体现: PC1 对总体变异的解释率从 13 dph 的 54.70%显著跃升至 43 dph 的 88.80%, 这有力地表明, 随着早期发育的推进, 杂交鳢与斑鳢的转录组调控轨迹正迅速分化。

尽管 13 dph 样本的参考基因组比对率较低为 68.73%–78.99%, 但数据的生物学分析价值并未因此受损。各组样本内部重复性良好, 且不同实验组在主成分空间中清晰分离(图 1), 表明生物学差异是样本间变异的主要来源。事实上, 较低的比对率在利用近缘物种参考基因组或分析发育早

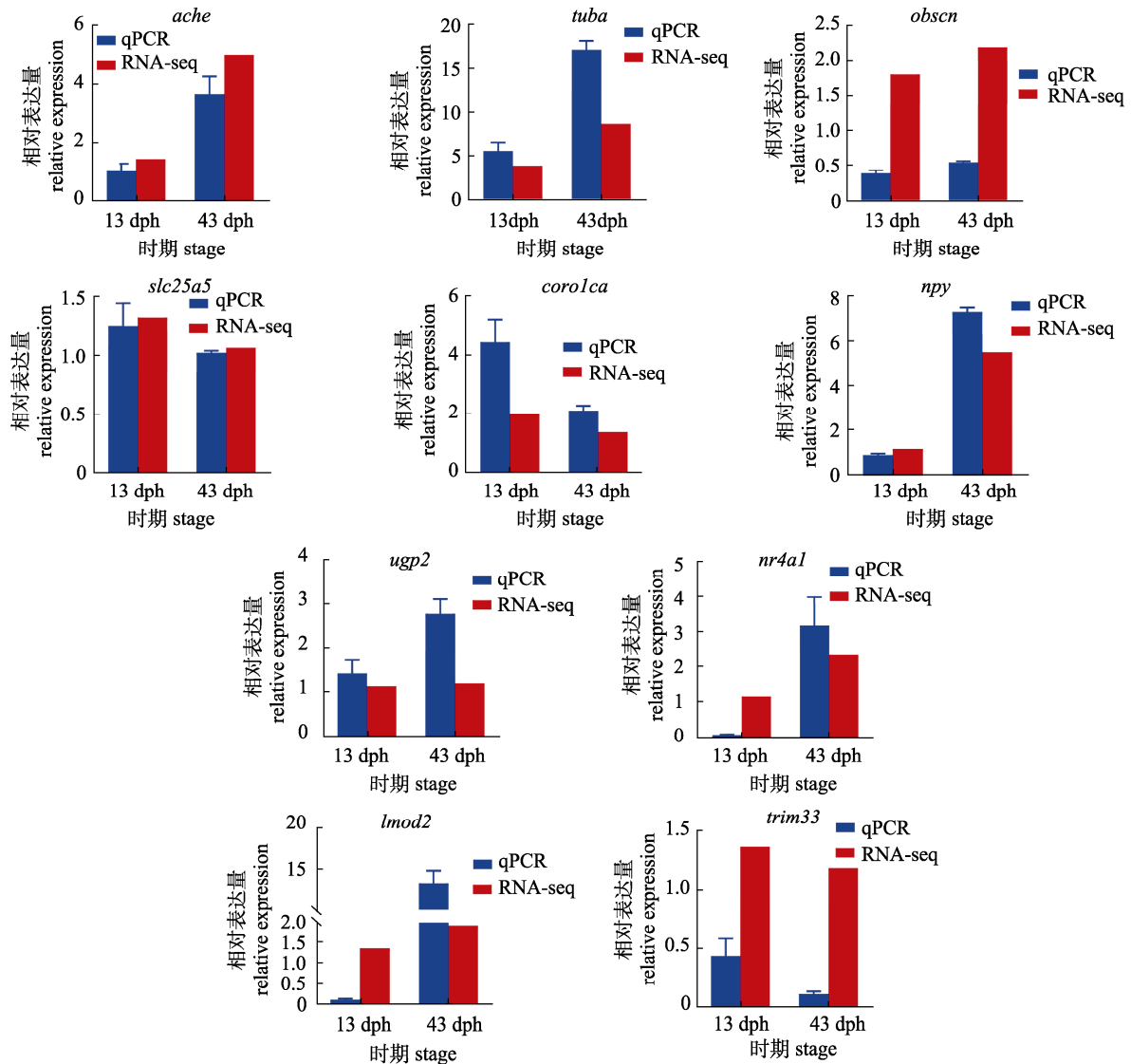


图 8 13 dph 和 43 dph 杂交鳢差异表达基因 qPCR 验证结果  
Fig. 8 qPCR validation of differentially expressed genes in hybrid snakehead (*Channa maculata* ♀ × *C. argus* ♂) at 13 and 43 dph

期样本的转录组研究中并不少见, 在褐牙鲈 (*Paralichthys olivaceus*)<sup>[31]</sup>、大西洋鲑 (*Salmo salar*)<sup>[32]</sup>及杂交石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂)<sup>[33]</sup>的研究中, 即便对比率存在波动或处于相对较低水平, 研究者们依然成功地识别出关键基因与调控通路, 证明了数据的可靠性与有效性。

### 3.2 13 dph 的转录组特征: 基础代谢与生理稳态的维持

在 13 dph, 功能富集分析显示, 差异表达基因(DEGs)的调控主要集中于维持基础的细胞与代谢过程(图 5a), 其核心则是通过激活氧化磷酸化

等通路来保障高效的能量供给(图 6a)。具体而言, GO 富集分析表明, 此阶段差异基因在生物学过程类别中主要富集于细胞过程、代谢过程和生物调节等基础生命活动条目。这表明, 在形态差异显现之前, 杂交鳢已在基础细胞功能和代谢调节层面进行了优化。

这一功能特征也得到了 KEGG 通路富集分析的支持(图 6a)。分析发现, 差异基因显著富集于氧化磷酸化通路。该通路是细胞产生 ATP 的核心途径, 其基因的上调预示杂交鳢可能拥有更高的基础能量代谢效率, 能为细胞的各项生命活动提供充足的能量。此外, 吞噬体等与细胞内稳态和

防御相关的通路也被激活,暗示杂交鳢可能具备更强的细胞稳定性与环境胁迫抵抗力。因此,在 13 dph,杂交鳢的分子调控策略侧重于构建一个更高效、更稳健的代谢和生理基础,为后续的快速生长奠定基础。

### 3.3 43 dph 的转录组特征:物质合成与生长发育的激活

与 13 dph 的基础保障策略形成对比,43 dph 的转录组调控重心发生了明显变化。此时,GO 富集的主要方向转向了更为宏观的发育过程(图 5b),而 KEGG 通路则揭示了其分子机制:与营养物质合成与代谢相关的通路被全面激活(图 6b)。GO 富集分析的变化清晰地印证了这一点:在生物学过程类别中,发育过程和多细胞生物过程的富集程度显著增强。这标志着分子调控的重点已从单个细胞的内部活动,转移至整个生物体的组织构建与生长发育。

KEGG 通路富集结果则揭示了其生长优势的核心分子机制(图 6b)。此时,差异基因不再主要富集于基础能量生产,而是显著富集在一系列与营养物质高效利用和生物合成直接相关的通路上。例如,脂肪细胞中的脂肪分解调控、果糖和甘露糖代谢以及氨基酸生物合成等通路的激活,表明杂交鳢能够更高效地分解、转化饲料中的脂类、糖类和蛋白质,并利用这些物质前体进行机体组织的快速合成。同时,cAMP 信号通路和 HIF-1 信号通路等关键信号通路的富集,可能扮演了重要的上游调控角色,系统性地调控这些复杂的代谢网络。

### 3.4 调控杂交鳢生长优势的核心基因鉴定与功能分析

为了进一步从分子层面解析上述生物学过程,通过对蛋白互作网络进行分析,筛选出 *npv*、*slc25a5*、*ugp2*、*obscn*、*ache*、*coro1ca*、*tuba*、*lmod2*、*nr4a1* 和 *trim33* 这 10 个位于网络中心节点的关键基因。这些基因主要参与了与能量代谢、肌肉发育和神经调控等生物学过程,在表达模式可分为三种类型:*npv*、*slc25a5*、*ugp2*、*obscn*、*ache*、*coro1ca*、*tuba* 在两个发育时期均持续上调,可能是维持杂交优势的主要因素;*lmod2* 和 *nr4a1* 在 13

dph 下调,43 dph 上调,暗示其在发育不同时期发挥着特异性的调控功能;*trim33* 在两个时期均下调,可能是通过解除对某一通路的抑制从而促进了生长。

**3.4.1 神经递质调控与摄食行为相关基因** 杂交鳢的生长优势与其摄食效率的提升密切相关。本研究发现,关键的神经调控基因 *npv* 和 *ache* 在两个发育时期均显著上调,可能共同构成了其摄食优势的分子基础。

*Npv* 作为一种强效的促食欲神经肽,其持续上调直接增强了杂交鳢的摄食动机<sup>[34-35]</sup>,同时,*Npv* 还能通过与 GH/IGF 轴的互作促进机体生长<sup>[36-39]</sup>,这一双重调控机制已在金鱼(*Carassius auratus*)<sup>[40]</sup>和罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)<sup>[41]</sup>以及橙斑石斑鱼(*Epinephelus coioides*)<sup>[42]</sup>和鲇(*Clarias garipinus*)<sup>[43]</sup>等多种鱼类中得到验证。相应地,*ache* 的高表达确保了乙酰胆碱的快速水解,从而提升神经肌肉信号传递的效率与精确性<sup>[44-45]</sup>,这可能赋予了杂交鳢更敏捷的捕食能力。

更重要的是,*npv* 和 *ache* 的功能存在协同效应。已有研究表明,*Npv* (或其同源物 *Npf*) 与胆碱能信号系统紧密偶联,共同维持摄食相关的稳态平衡<sup>[46-47]</sup>。因此,*npv* 和 *ache* 的协同上调可能在杂交鳢中形成了一个高效的正反馈环路:*npv* 的表达增强驱动强烈的摄食欲望,而 *ache* 的高效活动则确保了捕食行为的精准与敏捷。这一增强摄食-高效捕食的分子协同机制,有效提升了能量获取效率,从而转化为显著的生长优势,这可能是杂交鳢杂种优势的关键分子驱动力之一。

**3.4.2 能量代谢与物质转运相关基因** 充足的能量摄入必须匹配高效的能量转化,才能最终实现生长优势。本研究发现,在发育全程均显著上调的 *ugp2* 和 *slc25a5* 基因,分别从能量储备和能量利用两个层面,强化了支持杂交鳢快速生长的能量代谢网络。

*Ugp2* 作为糖原合成途径中的关键限速酶,其持续上调表明杂交鳢对糖原储备能力得到显著增强,这与在其他快速生长的鱼类如:鳙(*Aristichthys nobilis*)<sup>[48]</sup>和罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)<sup>[49]</sup>一致。这种能量储备能力的增强,为杂交鳢高强

度的新陈代谢活动提供了充足且易于调动的能量库, 是其持续高速生长的物质基础。另一方面, *slc25a5* 基因编码的 ADP/ATP 转运蛋白是连接细胞质与线粒体基质能量流的枢纽<sup>[50,51]</sup>, 其上调确保了能量的有效利用和输出。这也与 KEGG 分析中氧化磷酸化通路富集, 以及 GO 分析中多个线粒体相关功能的上调高度吻合, 共同表明杂交鳢的线粒体功能相较于斑鳢更加强大, 能够更高效地将能量底物转化为可直接利用的 ATP 以满足巨大的能量需求。

综上, *ugp2* 与 *slc25a5* 的协同上调构建了一条从营养储备到 ATP 生成的高效能量供应链。结合前述的摄食增强机制, 杂交鳢通过高效摄食与高效能量转化的双重优势, 共同驱动了其杂种生长优势的形成。

**3.4.3 肌肉生长与结构相关基因** 在强大的能量供应支持下, 杂交鳢的生长优势最终体现在肌肉组织的快速构建上。本研究鉴定出多组关键基因, 它们通过不同的表达调控模式, 共同为杂交鳢的肌肉生长提供了分子基础。

首先, 多个与肌原纤维结构和组装相关的基因持续上调, 为肌肉的快速生长提供了坚实的结构保障。其中, *obscn* 作为肌小节组装和结构维持的关键调节因子<sup>[52-53]</sup>, 不仅参与肌纤维结构的维持, 还与肌内脂肪含量和代谢密切相关<sup>[54,55]</sup>。这种多功能性在不同物种中得到验证, 如虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[56]</sup>和三系杂交鲍鱼<sup>[57]</sup>。而 *coro1ca* 通过调控肌动蛋白纤维网络<sup>[58,59]</sup>, 参与细胞骨架重组和能量代谢调控<sup>[60]</sup>。*tuba* 则在细胞分裂和物质运输过程中发挥关键作用<sup>[61]</sup>, 两者的协同作用为肌肉组织的形成提供了结构基础。

其次, *lmod2* 和 *nr4a1* 的动态表达模式, 揭示了杂交鳢在肌肉发育过程中存在着一种高效的时序调控策略。它们在 13 dph 时下调, 但在 43 dph 时转为显著上调。*lmod2* 是薄肌丝组装的关键因子, 直接影响肌纤维的有序排列和收缩功能<sup>[62-64]</sup>。*nr4a1* 则作为多功能转录因子, 既参与能量代谢调控<sup>[65]</sup>, 又在肌纤维形成中起关键作用<sup>[66]</sup>。这种从表达模式在不同发育时期的转换, 可能反映了杂交鳢在早期阶段优先保障肌细胞的增殖, 而后

随着 *lmod2* 和 *nr4a1* 的上调, 则向着肌纤维的快速分化、成熟与功能化的方向转变。

此外, 生长抑制信号的解除也为杂交鳢的持续生长清除了障碍。转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 信号通路中的负调控因子 *trim33* 在两个时期均持续下调<sup>[67,68]</sup>。杂交鳢中 *trim33* 的持续下调可能反映了杂交鳢的肌肉生长发育被解除了部分抑制, 为肌肉的持续高效生长创造了有利条件。

## 4 结论

本研究采用转录组测序的方法, 以斑鳢和杂交鳢在 13 dph 和 43 dph 两个关键发育时期的全鱼和肌肉组织为材料, 进行转录组差异性表达分析, 并结合功能富集与通路分析手段, 挖掘出影响杂交鳢生长优势形成的, 涉及多个生物学途径的关键候选基因。研究表明, 杂交鳢的生长优势并非由单一基因决定, 而是在神经调控、摄食行为、肌肉发育和能量代谢等多个关键生物学过程中, 由多基因共同参与调控而成的结果。同时, 筛选并验证的 10 个核心候选基因(*npv*、*slc25a5*、*ugp2*、*obscn*、*ache*、*coro1ca*、*tuba*、*lmod2*、*nr4a1*、*trim33*), 其动态和协同表达模式可能是杂交鳢生长优势形成的重要原因。因此, 本研究不仅丰富了对鳢科鱼类杂交优势产生机制的认识和理解, 同时也为进一步利用分子辅助选择等方式开展鳢科鱼类遗传改良工作提供了坚实的理论基础和丰富的基因资源。

## 参考文献:

- [1] Qin Y P, Liao Q L, Shi G, et al. Comparison of growth, survival and fertility of the southern and northern populations of *Crassostrea ariakensis* and their hybrids in Southern China[J]. Aquaculture, 2022, 549: 737744.
- [2] Potts R W A, Gutierrez A P, Penaloza C S, et al. Potential of genomic technologies to improve disease resistance in molluscan aquaculture[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences, 2021, 376(1825): 20200168.
- [3] Xiao Q Z, Shen Y W, Gan Y, et al. Three-way cross hybrid abalone exhibit heterosis in growth performance, thermal tolerance, and hypoxia tolerance[J]. Aquaculture, 2022, 555: 738231.

- [4] Tian Y, Kong J, Yang C H. Comparative growth and viability of hybrids between two populations of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*)[J]. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(19): 2369-2374.
- [5] Hu Z-M, Shan T-F, Zhang J, et al. Kelp aquaculture in China: A retrospective and future prospects[J]. Reviews in Aquaculture, 2021, 13(3): 1324-1351.
- [6] Rahman M A, Lee S, Yusoff F Md, et al. Hybridization and its application in aquaculture[J]. Sex Control in Aquaculture, 2018:163-178.
- [7] Zhang X C, Chen K C, Zhu X P. Research status of culture of *Channa argus*, *Channa maculata* and their hybrid [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2011, 38(22): 132-134. [张新铖, 陈昆慈, 朱新平. 乌鳢、斑鳢及杂交种养殖研究现状[J]. 广东农业科学, 2011, 38(22): 132-134.]
- [8] Liu S, Zhu X P, Chen K C, et al. Morphological variations of *Channa maculata*, *Channa argus* and their hybrid (*C. maculata* ♀ × *C. argus* ♂)[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2011, 30(4): 488-493. [刘苏, 朱新平, 陈昆慈, 等. 斑鳢、乌鳢及其杂交种形态差异分析[J]. 华中农业大学学报, 2011, 30(4): 488-493.]
- [9] Ou M, Zhao J, Luo Q, et al. Research progress on the breeding and application of sex control in snakehead[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2022, 24(2): 11-25. [欧密, 赵建, 罗青, 等. 鳢性别控制育种及应用研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2022, 24(2): 11-25.]
- [10] Wang C, Lü Z J, Zeng Y D, et al. Comparison of growth and immunity of hybrid and backcrossing progenies between Northern snakehead *Channa argus* and Taiwan snakehead *C. maculata*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2015, 30(5): 467-471. [王超, 吕子君, 曾运丁, 等. 斑鳢与乌鳢杂交及回交子代生长和免疫指标的比较研究[J]. 大连海洋大学学报, 2015, 30(5): 467-471.]
- [11] Wang Z, Gerstein M, Snyder M. RNA-Seq: A revolutionary tool for transcriptomics[J]. Nature Reviews Genetics, 2009, 10(1): 57-63.
- [12] Chen B L, Xiao W, Zou Z Y, et al. Comparing transcriptomes reveals key metabolic mechanisms in superior growth performance Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Frontiers in Genetics, 2022, 13: 879570.
- [13] Šimková A, Křížová K C, Voříšková K, et al. Heterosis versus breakdown in cyprinid hybrids associated with SVCV infection revealed by transcriptome profile analysis of head kidney[J]. Aquaculture, 2024, 578: 740083.
- [14] Lu X, Chen H M, Qian X Q, et al. Transcriptome analysis of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) between fast- and slow-growing fish[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, 2020, 35: 100688.
- [15] Xie J Y, Li S S, Xue W B, et al. Transcriptome analysis of body color pattern regions and expression analysis of tyrosinase family genes during development in *Siniperca chuatsi*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2024, 31(5): 501-512. [谢金洋, 李帅帅, 薛文博, 等. 鳊体色图案区转录组和酪氨酸酶家族基因在发育过程中的表达[J]. 中国水产科学, 2024, 31(5): 501-512.]
- [16] Shao J Q, Du J X, Lei C X, et al. Development of genes and SNP markers related to food domestication based on largemouth bass transcriptome[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2022, 29(3): 421-434. [邵嘉棋, 杜金星, 雷彩霞, 等. 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[J]. 中国水产科学, 2022, 29(3): 421-434.]
- [17] Fan J H, Ye H, Song X H, et al. Comparative transcriptomic analysis of male and female gonads of the Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2024, 31(2): 129-143. [樊佳慧, 叶欢, 宋信华, 等. 长吻鮠雌雄性腺转录组比较分析[J]. 中国水产科学, 2024, 31(2): 129-143.]
- [18] Vélez E J, Lutfi E, Azizi S, et al. Understanding fish muscle growth regulation to optimize aquaculture production[J]. Aquaculture, 2017, 467: 28-40.
- [19] Duran B O S, Zanella B T T, Perez E S, et al. Amino acids and IGF1 regulation of fish muscle growth revealed by transcriptome and microRNAome integrative analyses of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) myotubes[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(3): 1180.
- [20] Zhang Y X, Wang B, Liu X Z, et al. Physiological role of the growth axis in embryonic development and early growth of *Cynoglossus semilaevis*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 26(2): 287-295. [张雅星, 王滨, 柳学周, 等. 生长轴对半滑舌鳎早期生长发育的调控作用[J]. 中国水产科学, 2019, 26(2): 287-295.]
- [21] Cao X L, Cui H, Ji X Y, et al. Determining the potential roles of branched-chain amino acids in the regulation of muscle growth in common carp (*Cyprinus carpio*) based on transcriptome and microRNA sequencing[J]. Aquaculture Nutrition, 2023, 2023: 7965735.
- [22] Zou X, Liu Q, Guan Q Q, et al. Muscle fiber characteristics and transcriptome analysis in slow- and fast-growing *Megalobrama amblycephala*[J]. Genes, 2024, 15(2): 179.
- [23] Zeng S, Liu X G, Wang P F, et al. Muscle transcriptome of *Siniperca chuatsi* with different weights from a full-sib family [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(1): 53-62. [曾爽, 刘宣歌, 王鹏飞, 等. 全同胞家系中生长差异翘嘴鳊肌肉转录组分析[J]. 中国水产科学, 2020, 27(1): 53-62.]
- [24] Chen Z C, Peng W T, Li J, et al. Functional dissection and transport mechanism of magnesium in plants[J]. Seminars in Cell & Developmental Biology, 2018, 74: 142-152.
- [25] Kim D, Langmead B, Salzberg S L. HISAT: A fast spliced aligner with low memory requirements[J]. Nature Methods, 2015, 12(4): 357-360.

- 2015, 12(4): 357-360.
- [26] Perteua M, Perteua G M, Antonescu C M, et al. StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads[J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33(3): 290-295.
- [27] Li B, Dewey C N. RSEM: Accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome[J]. *BMC Bioinformatics*, 2011, 12(1): 323.
- [28] 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.
- [29] Reiter L T, Murakami T, Koeuth T, et al. A recombination hotspot responsible for two inherited peripheral neuropathies is located near a mariner transposon-like element[J]. *Nature Genetics*, 1996, 12(3): 288-297.
- [30] Kanehisa M, Goto S. KEGG Kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(1): 27-30.
- [31] Zhang Y Q, Zhang W Y, Jian Y M, et al. Identification of candidate genes and pathways involved in the establishment of sexual size dimorphism in the olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) using RNA-seq[J]. *Aquaculture*, 2025, 595: 741604.
- [32] Madaro A, Nilsson J, Whatmore P, et al. Acute stress response on Atlantic salmon: A time-course study of the effects on plasma metabolites, mucus Cortisol levels, and head kidney transcriptome profile[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2023, 49(1): 97-116.
- [33] Huang J, Yang M, Liu J C, et al. Transcriptome analysis of high mortality phenomena in polyploid fish embryos: An allotriploid embryo case study in hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂)[J]. *Aquaculture*, 2023, 571: 739446.
- [34] Tatemoto K, Carlquist M, Mutt V. Neuropeptide Y—a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide[J]. *Nature*, 1982, 296(5858): 659-660.
- [35] Blomqvist A G, Söderberg C, Lundell I, et al. Strong evolutionary conservation of neuropeptide Y: Sequences of chicken, goldfish, and *Torpedo marmorata* DNA clones[J]. *PNAS*, 1992, 89(6): 2350-2354.
- [36] Assan D, Mustapha U F, Chen H P, et al. The roles of neuropeptide Y (npY) and peptide YY (pYY) in teleost food intake: A mini review[J]. *Life*, 2021, 11(6): 547.
- [37] Matsuda K, Sakashita A, Yokobori E, et al. Neuroendocrine control of feeding behavior and psychomotor activity by neuropeptide Y in fish[J]. *Neuropeptides*, 2012, 46(6): 275-283.
- [38] Yokobori E, Azuma M, Nishiguchi R, et al. Neuropeptide Y stimulates food intake in the Zebrafish, *Danio rerio*[J]. *Journal of Neuroendocrinology*, 2012, 24(5): 766-773.
- [39] Peng C, Humphries S, Peter R E, et al. Actions of goldfish neuropeptide Y on the secretion of growth hormone and gonadotropin-II in female goldfish[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 1993, 90(3): 306-317.
- [40] Peng C, Peter R E. Neuroendocrine regulation of growth hormone secretion and growth in fish[J]. *Zoological Studies-Taipei*, 1997, 36: 79-89.
- [41] Kiris G A, Kumlu M, Dikel S. Stimulatory effects of neuropeptide Y on food intake and growth of *Oreochromis niloticus*[J]. *Aquaculture*, 2007, 264(1-4): 383-389.
- [42] Wu S G, Li B, Lin H R, et al. Stimulatory effects of neuropeptide Y on the growth of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2012, 179(2): 159-166.
- [43] Mazumdar M, Lal B, Sakharkar A J, et al. Involvement of neuropeptide Y Y1 receptors in the regulation of LH and GH cells in the pituitary of the catfish, *Clarias batrachus*: An immunocytochemical study[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2006, 149(2): 190-196.
- [44] Behra M, Cousin X, Bertrand C, et al. Acetylcholinesterase is required for neuronal and muscular development in the zebrafish embryo[J]. *Nature Neuroscience*, 2002, 5(2): 111-118.
- [45] Haverroth G M, Welang C, Mocelin R N, et al. Copper acutely impairs behavioral function and muscle acetylcholinesterase activity in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 122: 440-447.
- [46] Jiang X M, Shi J, Yang H R, et al. The cholinergic pathway transmits signals of neuropeptide F to regulate feeding of *Ostrinia furnacalis* larvae[J]. *Pest Management Science*, 2023, 79(10): 3593-3601.
- [47] Johnson C D, Barlow-Anacker A J, Pierre J F, et al. Deletion of choline acetyltransferase in enteric neurons results in postnatal intestinal dysmotility and dysbiosis[J]. *FASEB Journal*, 2018, 32(9): 4744-4752.
- [48] Fu B D, Yu X M, Tong J G, et al. Comparative transcriptomic analysis of hypothalamus-pituitary-liver axis in bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) with differential growth rate[J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 328.
- [49] Jung H, Lyons R E, Li Y T, et al. A candidate gene association study for growth performance in an improved giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) culture line[J]. *Marine Biotechnology*, 2014, 16(2): 161-180.
- [50] Zhu S L, Wang W, Zhang J W, et al. Slc25a5 regulates adipogenesis by modulating ERK signaling in OP9 cells[J]. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2022, 27(1): 11.
- [51] Silva-Marrero J I, Sáez A, Caballero-Solares A, et al. A transcriptomic approach to study the effect of long-term starvation and diet composition on the expression of mitochondrial oxidative phosphorylation genes in gilthead sea bream (*Sparus aurata*)[J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 768.
- [52] Chen P P, Xiao Y, Wang Y P, et al. Intracellular calcium

- current disorder and disease phenotype in OBSCN mutant iPSC-based cardiomyocytes in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy[J]. *Theranostics*, 2020, 10(24): 11215-11229.
- [53] Fujita K, Desmond P, Blondelle J, et al. Combined loss of obsc and Obsl1 in murine hearts results in diastolic dysfunction, altered metabolism, and deregulated mitophagy [J]. *Circulation Heart Failure*, 2025, 18(4): e011867.
- [54] Serão N V L, Veroneze R, Ribeiro A M F, et al. Candidate gene expression and intramuscular fat content in pigs: Gene expression and intramuscular fat content in pigs[J]. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 2011, 128(1): 28-34.
- [55] Qi K K, Men X M, Wu J, et al. Rearing pattern alters porcine myofiber type, fat deposition, associated microbial communities and functional capacity[J]. *BMC Microbiology*, 2019, 19(1): 181.
- [56] Danzmann R G, Kocmarek A L, Norman J D, et al. Transcriptome profiling in fast versus slow-growing rainbow trout across seasonal gradients[J]. *BMC Genomics*, 2016, 17(1): 60.
- [57] Xiao Q Z, Gong S H, Huang Z K, et al. Ten candidate genes were identified to be associated with the great growth differentiation in the three-way cross hybrid abalone[J]. *Animals*, 2025, 15(2): 211.
- [58] Chan K T, Creed S J, Bear J E. Unraveling the *Enigma*: Progress towards understanding the coronin family of actin regulators[J]. *Trends in Cell Biology*, 2011, 21(8): 481-488.
- [59] Mace E M, Orange J S. Lytic immune synapse function requires filamentous actin deconstruction by Coronin 1A[J]. *PNAS*, 2014, 111(18): 6708-6713.
- [60] Hölttä-Vuori M, Vainio S, Kauppi M, et al. Endosomal actin remodeling by coronin-1A controls lipoprotein uptake and degradation in macrophages[J]. *Circulation Research*, 2012, 110(3): 450-455.
- [61] Gadadhar S, Bodakuntla S, Natarajan K, et al. The tubulin code at a glance[J]. *Journal of Cell Science*, 2017, 130(8): 1347-1353.
- [62] Pappas C T, Farman G P, Mayfield R M, et al. Cardiac-specific knockout of Lmod2 results in a severe reduction in myofilament force production and rapid cardiac failure[J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2018, 122: 88-97.
- [63] Kiss B, Gohlke J, Tonino P, et al. Nebulin and Lmod2 are critical for specifying thin-filament length in skeletal muscle[J]. *Science Advances*, 2020, 6(46): eabc1992.
- [64] Larrinaga T M, Farman G P, Mayfield R M, et al. Lmod2 is necessary for effective skeletal muscle contraction[J]. *Science Advances*, 2024, 10(11): eadk1890.
- [65] Pan X H, Liu B D, Chen S J, et al. Nr4a1 as a myogenic factor is upregulated in satellite cells/myoblast under proliferation and differentiation state[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 513(3): 573-581.
- [66] Zhang L, Wang Q, Liu W, et al. The orphan nuclear receptor 4A1: A potential new therapeutic target for metabolic diseases[J]. *Journal of Diabetes Research*, 2018, 2018: 9363461.
- [67] Mohassel P, Rosen P, Casciola-Rosen L, et al. Expression of the dermatomyositis autoantigen transcription intermediary factor 1 $\gamma$  in regenerating muscle[J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2015, 67(1): 266-272.
- [68] Williams F P, Haubrich K, Perez-Borrajero C, et al. Emerging RNA-binding roles in the TRIM family of ubiquitin ligases[J]. *Biological Chemistry*, 2019, 400(11): 1443-1464.

## Comparative transcriptomic analysis of *Channa maculata* and hybrid snakehead (*C. maculata* ♀ × *Channa argus* ♂) during early development and screening of key growth-related genes

LIU Jiajun<sup>1,2</sup>, LUO Qing<sup>2</sup>, LIU Haiyang<sup>2</sup>, LIU Jiafeng<sup>2</sup>, OU Mi<sup>2</sup>, FEI Shuzhan<sup>2</sup>, CHEN Jianhua<sup>1\*</sup>, ZHAO Jian<sup>2</sup>

1. Jiangsu Provincial Key Laboratory of Marine Biotechnology; College of Marine Science and Fisheries, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China;
2. Key Laboratory of Tropical and Subtropical Fishery Resource Application and Cultivation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China

**Abstract:** Heterosis, or hybrid vigor, is a cornerstone of modern aquaculture; however, the molecular mechanisms

underlying this phenomenon, particularly during the critical early developmental stages, remain poorly understood. Hybrid snakehead (*Channa maculata* ♀ × *C. argus* ♂) displays marked growth superiority over its parents, making it an ideal model for dissecting the genetic basis of heterosis. In this study, we aimed to identify key regulatory genes and molecular pathways driving the early growth advantage in hybrid snakehead through comparative transcriptomic analysis against its maternal parent, *C. maculata*. Specifically, we constructed 12 cDNA libraries from whole-body samples at 13 days post-hatching (dph) and muscle tissues at 43 dph for both hybrid and parental groups. High-throughput RNA sequencing yielded approximately 500 million high-quality clean reads, with Q30 percentages consistently above 93.76% and mapping rates to the *C. maculata* reference genome (GCA\_020496755.1) ranging from 68.73% to 95.90%, thereby confirming dataset reliability. Principal component analysis revealed distinct transcriptional profiles between hybrid and parental groups at both developmental stages, with the first principal component (PC1) accounting for 54.70% (13 dph) and 88.80% (43 dph) of total variance, indicating significant, stage-specific transcriptional reprogramming in the hybrid. Differential expression analysis, using a threshold of  $|\log_2(\text{Fold Change})| \geq 1$  and false discovery rate  $< 0.05$ , identified 721 differentially expressed genes (DEGs; 427 up- and 294 down-regulated) at 13 dph and 385 DEGs (168 up- and 217 down-regulated) at 43 dph in hybrid group. Venn analysis revealed 23 core DEGs shared between both stages, suggesting their sustained importance in growth regulation. Gene ontology enrichment analysis highlighted a dynamic shift in biological functions: at 13 dph, DEGs were predominantly enriched in foundational processes—such as “metabolic process,” “cellular process,” “binding,” and “catalytic activity”—suggesting an early metabolic priming for rapid growth in hybrid group; at 43 dph, the functional landscape significantly shifted towards “developmental process,” “multicellular organismal process,” and “transporter activity”, reflecting a transition to active tissue construction and morphological development. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway analysis further emphasized the enrichment of pathways associated with neuro-regulation, feeding behavior, muscle development, and energy metabolism. Ten core candidate genes, including *npv*, *slc25a5*, *ugp2*, *obsn*, *ache*, *coro1ca*, *tuba*, *lmod2*, *nr4a1*, and *trim33*, were selected, and their expression patterns were successfully validated via qPCR. Notably, the consistent upregulation of neuropeptide Y (*npv*), a potent appetite stimulator, suggests enhanced feeding motivation. Moreover, the upregulation of genes involved in energy metabolism, such as UDP-glucose pyrophosphorylase 2 (*ugp2*) and solute carrier family 25 member 5 (*slc25a5*), indicates an optimized energy supply chain for fueling growth. Concurrently, the downregulation of growth inhibitors—such as tripartite motif-containing 33 (*trim33*)—may relieve myogenic inhibition. Furthermore, genes crucial for muscle structure and remodeling, including leiomodin-2 (*lmod2*) and coronin-1A (*coro1ca*), showed differential expression, underscoring active muscle development. In conclusion, our findings demonstrate that early growth heterosis in hybrid snakehead is not governed by a single master gene but constitutes a complex trait orchestrated by the synergistic action of multiple genes across diverse biological pathways. We propose a model where enhanced neuroendocrine-driven feeding motivation, highly efficient energy metabolism, and accelerated muscle development collectively *underpin* growth superiority in hybrid group. Our findings provide novel insights into the molecular basis of fish heterosis and establish a scientific basis for marker-assisted selection, genetic improvement, and sustainable aquaculture of snakehead.

**Key words:** *Channa maculata*; *Channa maculata* ♀ × *Channa argus* ♂; early development; transcriptome; muscle; heterosis

\*Corresponding author: CHEN Jianhua. E-mail: chenjianhuazsu@163.com