

宣富君,王 坤,曹佳欣,等. 基于卵巢转录组中华绒螯蟹大规格亲本育苗优势的分子机理[J]. 江苏农业科学,2021,49(23):166-173.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.23.030

# 基于卵巢转录组中华绒螯蟹大规格亲本育苗优势的分子机理

宣富君<sup>1</sup>,王 坤<sup>1</sup>,曹佳欣<sup>1</sup>,付龙龙<sup>2</sup>,张建光<sup>3</sup>,潘建林<sup>2</sup>,管卫兵<sup>4</sup>,成永旭<sup>5</sup>

(1. 盐城师范学院湿地学院/江苏省盐土生物资源研究重点实验室,江苏盐城 224051;2. 江苏省淡水水产研究所,江苏南京 210017;

3. 江苏大仁水产良种有限公司,江苏盐城 224300;4. 上海海洋大学海洋生态与环境学院,上海 201306;

5. 上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室,上海 201306)

**摘要:**种质退化是当下河蟹产业健康发展所面临的重要课题之一,目前科研单位和养殖户逐步认识到选用大规格亲本(雄性:≥ 200 g;雌性:≥ 150 g)所育苗种在后续成蟹养殖上的优势,纷纷推荐和选用大规格亲本苗种,但其潜在的分子机制尚不清楚。本研究首次基于卵巢比较转录组(大规格与一般规格)探讨中华绒螯蟹大规格亲本潜在的分子优势。结果表明:2 组共检测到 8 772 个差异表达基因(5 307 个上调,3 465 个下调),其中 43 个常见差异基因出现在与生殖、免疫和生长相关的 15 条通路中。经 qRT-PCR 验证,对其中 9 个相关基因(包括 *TRINITY\_DN13931\_c0\_g1*、*TRINITY\_DN1908\_c0\_g2* 和 *TRINITY\_DN6686\_c0\_g1*)开展进一步研究。这些被证实的常见差异表达基因主要富集于细胞凋亡、胰岛素信号和 mTOR 信号等途径。为进一步探讨利用大规格亲本遗传育种奠定了重要的分子基础,并在生长、繁殖和免疫方面指出了利用大规格亲本育苗潜在的分子优势,不仅可以丰富甲壳动物繁育生物学的基本理论,而且可为今后河蟹大规格优质苗种的推广提供必要的理论支撑。

**关键词:**中华绒螯蟹;大规格亲本;育苗;转录组;分子机理

**中图分类号:**S968.25 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)23-0166-07

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)别称河蟹、大闸蟹,是我国重要的经济水产物种。得益于 20 世纪 70 年代河蟹人工育苗技术的突破<sup>[1]</sup>和土池育苗技术的推广应用<sup>[2]</sup>,目前河蟹养殖已经遍布全国 31 个省(市、自治区),包括台湾<sup>[3]</sup>和西藏自治区<sup>[4]</sup>。河蟹养殖产量从 2000 年的 23 万 t 增加到 2018 年的 75 万 t<sup>[5]</sup>,产值近 500 亿元,被称为特种水产养殖业中的“奇葩”,超过世界其他经济蟹类养殖和捕捞总和<sup>[6-7]</sup>。

种质退化是当下河蟹产业健康发展所面临的重要课题之一。育苗单位曾盲目追求经济利益和降低生产成本,无序引进其他各大水系的苗种及采用小规格亲本用于苗种生产,造成商品蟹形状退

化,规格小,养殖效益低下<sup>[8]</sup>。获取高质量的亲本是河蟹育苗成功的关键<sup>[6]</sup>。近几年在科研单位的积极引导下,越来越多的育苗单位和养殖户认识到选用大规格亲本(雄性:≥200 g;雌性:≥150 g)苗种在后续养成优质商品蟹上的优势。例如,从不同规格亲本的繁殖性能和育苗效果看,大规格亲本的抱卵量、生殖力和产卵量明显高于其他规格。虽然不同规格亲本的胚胎大小无明显差异,但研究表明大规格亲本所产子代可以遗传其生长速度快的优良性状,大规格亲本所产大眼幼体的售价也往往高于普通大眼幼体<sup>[8-9]</sup>。在大眼幼体养成扣蟹阶段,大规格亲本苗种明显生长快,营养状况好,性能上更适合成蟹养殖<sup>[10-11]</sup>。更为重要的是,实践证明大规格苗种在成蟹养殖阶段可以显著提高河蟹的规格,产出更高比例的优质商品蟹,效益增加明显<sup>[12]</sup>。然而,与其他水产经济物种相比,中华绒螯蟹在种质资源机理方面的研究相对滞后,大规格亲本育苗潜在优势分子机制方面的研究至今尚未见报道。

本研究拟通过对发育成熟的大规格雌性亲本(约 250 g)与一般规格(约 100 g)的卵巢组织进行转录水平的高通量测序,并从生长发育、繁殖及免

收稿日期:2021-08-01

基金项目:江苏省种业振兴“揭榜挂帅”专项(中华绒螯蟹种质资源);江苏现代农业产业技术体系建设专项(编号:JATS[2020]362);宁夏自治区科技厅重点项目(编号:2020ZDYF0860);江苏省科技厅省政策引导类计划-苏北科技专项(编号:SZ-YC202041);江苏省产学研项目(编号:BY2020587)。

作者简介:宣富君(1981—),男,浙江绍兴人,博士,副研究员,主要从事甲壳动物生殖生物学研究。E-mail:swimming\_crab@126.com。

疫性能等方面进行相关基因的差异表达分析,进而探讨大规模亲本育苗潜在的分子优势。本工作不仅可以丰富甲壳动物繁育生物学的基本理论,而且可以为今后开展中华绒螯蟹的遗传育种及河蟹育苗产业推广普及大规模亲本提供必要的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本获取

2020 年 11 月 30 日,从江苏大仁水产良种有限公司盐城射阳育苗基地(120.455°E、33.886°N)获取大规模雌性亲本 3 只[(248.60 ± 3.12) g, F-O-D 组],一般规格 3 只[(102.87 ± 1.52) g, F-O-Z 组],分别暂养于盐城师范学院湿地学院配备的从大连汇新公司定制室内可控养殖系统的水桶内。3 d 后,待河蟹适应环境,个体经冰浴麻痹后迅速解剖;取出的卵巢组织分别放入 2 mL 冻存管,经液氮冷却,最终储存于 -80 °C 超低温冰箱中。

### 1.2 RNA 提取及测序

使用 TRIzol 试剂盒(TaKaRa 公司)提取不同卵巢样本中的总 RNA,之后通过 Agilent 2100 Bioanalyzer(美国)( $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$  为 1.8 ~ 2.2)和 15 g/L 琼脂糖凝胶电泳进行质检(28S rRNA/18S rRNA > 1.0)。样品质检合格后,用干冰保护并送往上海元莘生物医药科技有限公司测序。过程简述如下:使用用于 Illumina®(美国马萨诸塞州新英格兰生物实验室)的 TruSeq™ RNA 样品制备试剂盒构建总 RNA(5 μg/样品)的逆转录 cDNA 文库。然后,经修复末端修饰处理后,通过 15 个修复链式反应周期扩增 cDNA。最后,采用配对末端法的 Illumina HiSeq 4000 平台用于 cDNA 簇测序<sup>[13]</sup>。

### 1.3 RNA-seq 数据的预处理

Raw reads 的质量控制是根据 FastqStat.jar 工具软件(1.0 版本)实现的:(1)去除 5'端含有非 AGCT 的条形码序列和碱基;(2)消除 N > 10% 的成对读数;(3)排除 Q < 20 的碱基的低质量读数;(4)排除长度小于 25 bp 的读数。Clean reads 的质量控制是参照 FastQC(0.11.4 版本)软件执行的<sup>[14]</sup>。

### 1.4 转录组组装与基因表达分析

Trinity 是一种基于 Illumina 短片段序列(Clean reads)的无参考基因组的从头组装软件<sup>[15]</sup>。在本研究中,利用 Trinity Assembler(2.6.6 版本)软件完成从 Illumina 平台获取序列的 de novo 组装,并在 Trinity 中使用 ORF 方法进行基因预测。然后,基于

RNA-seq 数据量化软件 Kallisto(0.43.1 版本),对不同样本中的基因表达水平进行定量分析<sup>[16]</sup>。

### 1.5 样品间的关联分析

为调查不同样本,尤其是重复样本之间的相关性,本研究进行了样本间的关联分析。此外,利用主成分分析(PCA)根据样本聚类的表达情况进一步识别大样本的影响。

### 1.6 差异表达基因(DEGs)分析

使用 edgeR(3.24 版本)对 2 组之间的基因进行差异表达分析<sup>[17]</sup>。选择错误发现率(FDR) < 0.05 和  $|\log_2 \text{差异倍数}(\text{FD})| > 1$  作为 DEGs 调查的截止阈值。结果通过火山图和散点图可视化。然后,利用 plot\_cluster\_exp(1.1.0 版本)软件中的距离算法(样本间: Spearman 相关系数;基因间: Pearson 相关系数)进行 DEGs 的聚类分析,揭示具有相同或相似表达模式的基因。聚类结果通过热图可视化。

### 1.7 基于文献检索的常见差异表达基因(co-DEGs)探索

通过文献数据库检索筛选与生殖、生长和免疫相关的途径和富集基因。本研究检索的电子文献数据库,包括 Embase、PubMed 和 Cochrane。此外,在本研究中,这些途径中富集的基因与 DEGs 交叉,可获得与生殖、生长和免疫反应相关的 co-DEGs。

### 1.8 qRT-PCR 验证

为了筛选与测序结果趋势相同的 DEG,对 9 个 FC 较高的 co-DEG 进行基于 qRT-PCR 的定量验证。过程简述如下:使用 TRIzol 试剂(Invitrogen 公司,美国)从每组样品中提取并定量总 RNA(10 μL),并使用 SYBR Green PCR Mastermix (Applied Biosystems 公司,美国)进行反转录。然后,在 ABi Prism 7500 序列检测系统(Applied Biosystems 公司,美国)协助下进行 qRT-PCR 验证。以 ACTB 基因为参考。扩增-转录反应条件如下:95 °C 30 s;95 °C 5 s,40 个循环,60 °C 下 34 s;在每个延长周期的终点,获得信号,然后研究放大曲线。表 1 列出了引物序列,而目标基因的相对表达计算过程则参考  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  方法<sup>[18]</sup>。

### 1.9 通路富集分析

本研究利用 go\_enrichment(2.1.0 版本)软件,进一步对已得到验证的 co-DEG 开展京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析<sup>[19-20]</sup>。其中, $P < 0.05$  被认为是 KEGG 通路显著富集的截止值。

表 1 引物设计

基因	正向序列 (5'→3')	反向序列 (5'→3')	PCR 产物大小 (bp)
<i>ACTB</i>	ACGGAGCGAGGCTACACC	CGGCAGTGCTATTTCTCTG	112
<i>6686</i>	TGGGCACGGTGTTCTGCTAT	GCAACGCCTTCCTTCTGCT	195
<i>6296</i>	GCTCCCAGGACACCGAACA	CCACCGTGCAGGACAACC	120
<i>2026</i>	TTCCTATCTGTATCGCCCTCA	CCCCGCTATGCTCAGTTGT	115
<i>1908_c0_g2</i>	AGTACGGCAAGAGGAGCAAG	GTCGGAGTGTTCCAGGGTG	119
<i>605</i>	CTGCTGGGAAAATGAACCTTA	TGAGTGGGGAAGTGATTATGAA	110
<i>2717</i>	TGAAGGAAATGGTAAGCAAAGG	AATTATGCTGGGAAGGACGG	134
<i>608</i>	TCATCCACGCCAAATCCG	ATCACGTAGAAGTTGTCCCCAT	184
<i>13931</i>	AGAGCAGCACAGCCAAACC	GCGGCAGACCTGAGAAAACA	170
<i>35647</i>	TGTCCCTACAGAACTTTCTCCC	CACCCGCAGCCTTCCACT	102

2 结果与分析

2.1 样本间关联分析

在质量控制和数据预处理后,将测序数据纳入 F - O - D 组和 F - O - Z 组之间进行关联分析,以检验试验的可靠性和样本选择的合理性。PCA 分析表明,2 组间的样本以分散的方式分布,而组内的样本则聚集在一起(图 1)。相关聚类热图显示,参与本研究的样本的相关性很高(图 2)。

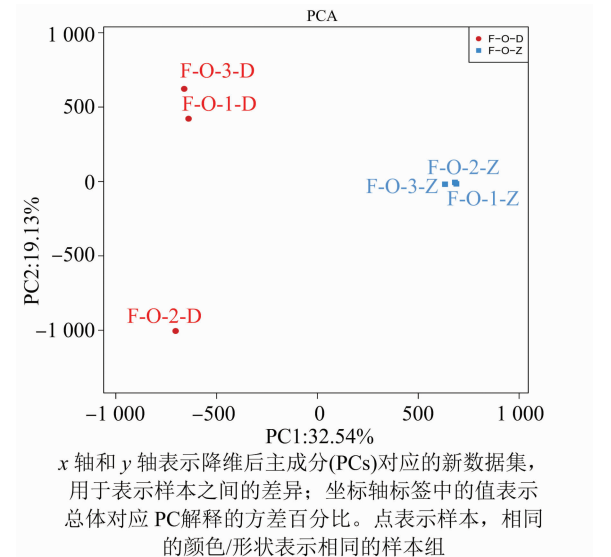
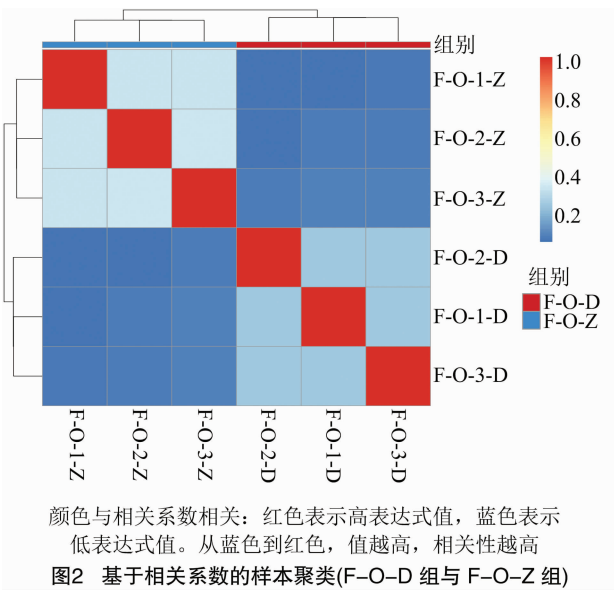


图 1 测序结果的主成分分析(PCA, F-O-D 组与 F-O-Z 组)

2.2 差异表达基因(DEGs)分析

根据 DEGs 测序数据,在 F - O - D 组和 F - O - Z 组之间共发现 5 307 个上调基因和 3 465 个下调基因。DEGs 分析结果的火山图如图 3 - A 所示,它直接指示了不同组中样本之间基因的相对表达值。所有这些 DEGs 的散点图如图 3 - B 所示。此外,对样本中的基因表达模式进行聚类分析显示,样本中的基因表达模式存在明显差异(图 4)。

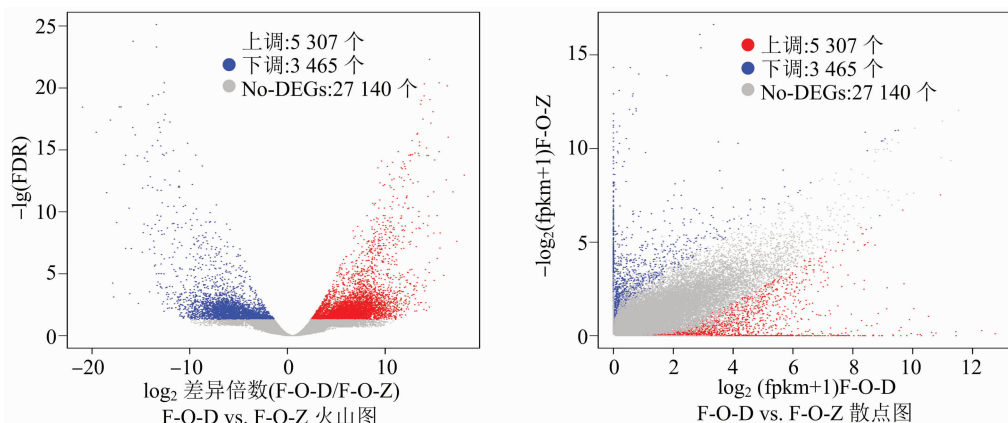


颜色与相关系数相关:红色表示高表达数值,蓝色表示低表达数值。从蓝色到红色,值越高,相关性越高

图 2 基于相关系数的样本聚类(F-O-D 组与 F-O-Z 组)

2.3 常见差异表达基因(co - DEGs)调查及 qRT - PCR 验证

根据文献检索,共有 7 条生殖相关途径(视黄醇代谢、细胞周期、mTOR 信号通路、Wnt 信号通路、胰岛素信号通路、卵巢类固醇生成和孕酮介导的卵母细胞成熟),4 条生长相关途径(mTOR 信号通路、PI3K - Akt 信号通路、Wnt 信号通路、TGF -  $\beta$  信号通路)和 7 条免疫相关途径[细胞周期、溶酶体、内吞、吞噬体、凋亡、细胞粘附分子(CAMs)和自然杀伤细胞介导的细胞毒性]被筛选出来。这 15 条途径(去除重叠途径后)中共富集 338 个基因,结合本研究调查的 DEGs,找到 43 个与这些生殖、免疫和生长途径相关的 co - DEGs。最后, qRT - PCR 验证了其中 9 个 co - DEG (*TRINITY\_DN6686\_c0\_g1*、*TRINITY\_DN6296\_c2\_g1*、*TRINITY\_DN2026\_c1\_g1*、*TRINITY\_DN1908\_c0\_g2*、*TRINITY\_DN605\_c0\_g2*、*TRINITY\_DN2717\_c0\_g1*、*TRINITY\_DN608\_c5\_g1*、



A. 2 组间 DEGs 的火山图: x 轴为 2 个样本间基因表达差异倍数变化值; y 轴为基因表达差异的统计检验值; 红色节点代表上调的 DEGs, 蓝色节点代表下调的 DEGs。B. 2 组间 DEGs 的散点图: x 轴为 F-O-D 组基因的表达式(TPM 值); y 轴为 F-O-Z 组基因的表达式(TPM 值); 红色节点代表上调的 DEGs, 蓝色节点代表下调的 DEGs; fpkm 表示基因相对表达量。下图同

图3 F-O-D 组与 F-O-Z 组差异表达基因(DEGs)比较

*TRINITY\_DN13931\_c0\_g1* 和 *TRINITY\_DN35647\_c0\_g1*, 结果显示其均与测序结果趋势一致(图 5)。

#### 2.4 验证 co-DEGs 的富集分析

对上述 9 个经 qRT-PCR 验证的 co-DEGs 开展 KEGG 富集分析(表 2), 结果表明, 这些 DEGs 主要富集于细胞凋亡(ko04210, 基因: *TRINITY\_DN13931\_c0\_g1*、*TRINITY\_DN1908\_c0\_g2* 和 *TRINITY\_DN6686\_c0\_g1*)、胰岛素信号通路(ko04910, 基因: *TRINITY\_DN13931\_c0\_g1*、*TRINITY\_DN2717\_c0\_g1* 和 *TRINITY\_DN608\_c5\_g1*) 和 mTOR 信号通路(ko04150, 基因: *TRINITY\_DN13931\_c0\_g1* 和 *TRINITY\_DN2717\_c0\_g1*)。

### 3 讨论

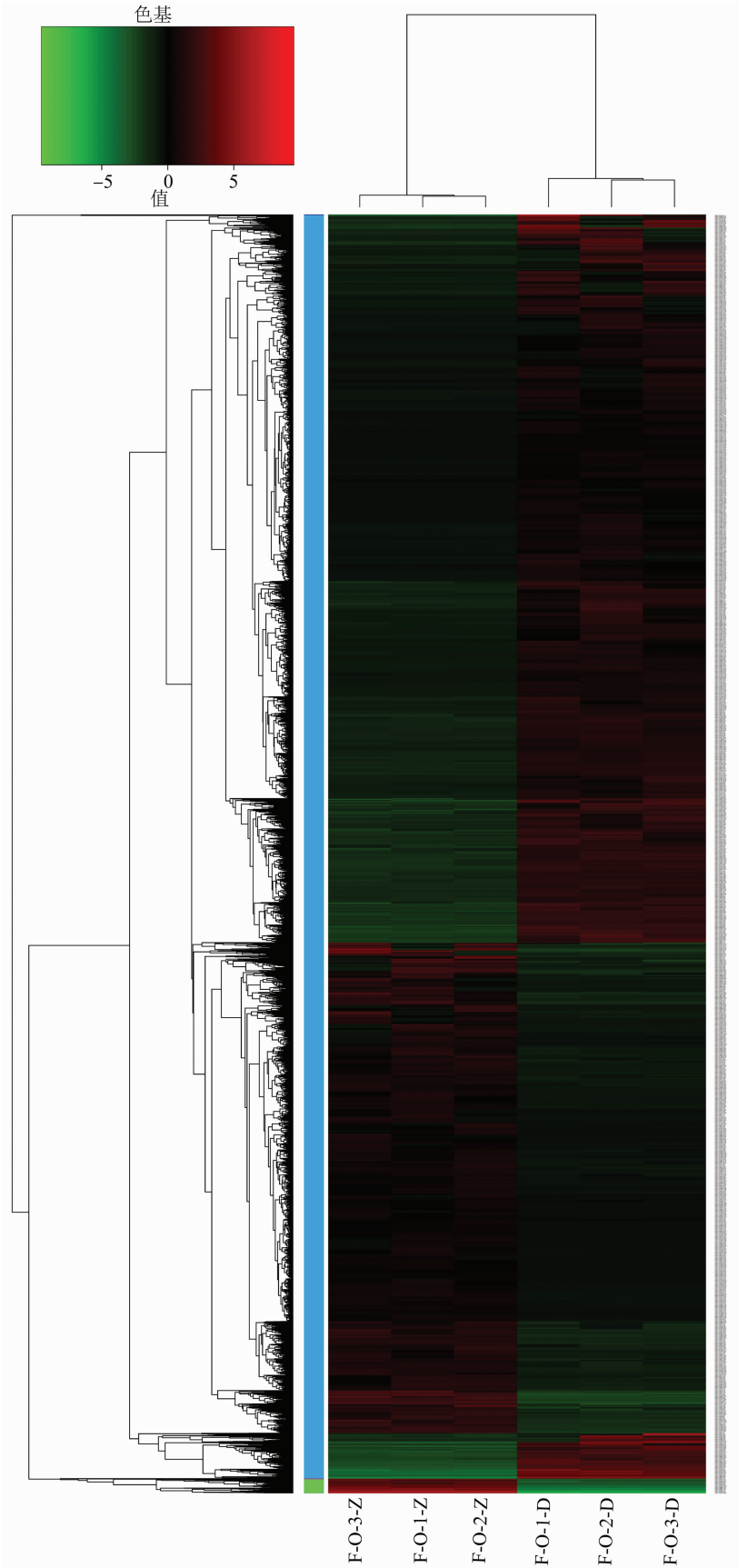
目前河蟹育苗使用大规格亲本已成为行业发展的新趋势, 但其潜在的分子优势仍不清楚。本研究首次基于卵巢比较转录组分析, 共检测到 8 772 个 DEGs(其中 5 307 个上调, 3 465 个下调), 而所有这些 DEGs 与文献报道的 15 条跟生殖、生长和免疫相关通路中的 338 个基因整合时, 共检索出 43 个 co-DEGs。经过 qRT-PCR 验证, 最终对其中 9 个 co-DEGs, 包括 *TRINITY\_DN13931\_c0\_g1*、*TRINITY\_DN1908\_c0\_g2* 和 *TRINITY\_DN6686\_c0\_g1* 进行了富集通路分析, 结果表明这些 co-DEGs 主要富集在胰岛素信号通路(生殖相关)、mTOR 信号通路(生长相关)和细胞凋亡(免疫相关)等途径中。

胰岛素信号与生殖之间的密切关系已在蠕虫和昆虫的身体发育中得到揭示<sup>[21-22]</sup>, 而控制个体规格大小涉及包括胰岛素在内的多条生长调节通

路<sup>[23]</sup>。先前的一项研究表明, 类胰岛素性腺激素基因广泛参与雌性青蟹(*Scylla paramamosain*)的生殖过程<sup>[24]</sup>。通过转录组测序, 目前已在甲壳动物物种中鉴定出多个参与胰岛素信号通路的类胰岛素肽<sup>[25]</sup>。重要的是, 雌性蟹已被认为是研究蟹类胰岛素肽生物学功能的重要载体<sup>[26]</sup>。例如, 胰岛素在雌性青蟹卵黄发生和卵母细胞成熟中的抑制作用是通过某些信号途径实现的, 如自分泌和旁分泌<sup>[21]</sup>。有趣的是, 刺激卵黄蛋白原的表达则是通过蟹体内的胰岛素实现的<sup>[25]</sup>。这些胰岛素相关蛋白, 包括类胰岛素肽, 不仅参与卵巢发育<sup>[26]</sup>, 还逆向调节葡萄糖代谢并参与中华绒螯蟹的抗病原体感染过程<sup>[27]</sup>。

mTOR 是磷脂酰肌醇 3-激酶相关激酶家族的成员, 调节包括生长控制在内的各种生物过程<sup>[28]</sup>。其中, mTOR 通路在动物发育、寿命和幼虫发育的调节过程中, 与胰岛素信号通路直接相关<sup>[29]</sup>。由于甲壳类动物必须定期脱落外骨骼才能发育和生长, 因此调节生长和蜕皮的 mTOR 信号通路已被人们广泛研究<sup>[30]</sup>。已经证明, mTOR 信号通路相关基因的表达有助于地蟹(*Gecarcinus lateralis*)的生长, 参与幼体热适应过程中的蜕皮调节<sup>[31]</sup>。此外, mTOR 通过整合内在信号(蜕皮激素)和外在此信号(热应激)来调节十足甲壳动物的蜕皮和生长。蜕皮腺是十足目甲壳动物类固醇激素产生和蜕皮周期调节的来源, 对蟹的外部环境和内部生理信号都有反应<sup>[30]</sup>。在蟹等甲壳类动物中, mTOR 的活性直接或间接控制着蜕皮腺驱动相关基因的转录<sup>[32]</sup>。

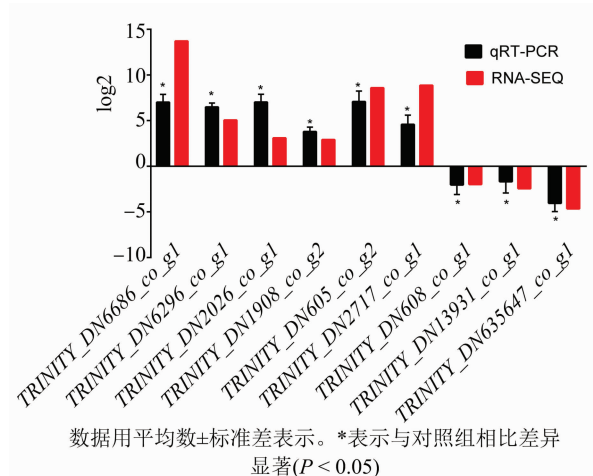
凋亡通路已被证明参与免疫过程<sup>[33]</sup>。最近, 在



每一列代表一个样本，每一行代表一个基因。图中颜色表示该组样本的基因表达水平 (lg fpkm)。红色表示该基因在样本中的高表达水平，绿色表示低表达水平

图4 样本间差异表达基因(DEGs)模式的聚类图(F-O-D 组与 F-O-Z组)





数据用平均数±标准差表示。\*表示与对照组相比差异显著( $P < 0.05$ )

图5 9个常见差异表达基因(co-DEGs)qRT-PCR 验证

青蟹中发现了效应 caspase,如 Sp - caspase,它表现出免疫反应和细胞凋亡<sup>[34]</sup>。在蟹类中,细胞凋亡可以诱导血细胞的活性,而血细胞在受到病原菌刺激后,在抵御病原菌入侵方面起着至关重要的作用<sup>[35]</sup>。对于中华绒螯蟹之前的一项研究表明,通过某些蛋白(如 Es IAP1)减少凋亡,可以调节细胞在生长过程中的活性<sup>[36]</sup>。最近的转录组分析发现,中华绒螯蟹在生长过程中,由于各种因素(如肝胰腺坏死疾病)引起的生长抑制和存活率降低均与细胞凋亡显著相关<sup>[37]</sup>。重要的是,凋亡通路中的 *nm23* 和 *caspase* 等基因参与了中华绒螯蟹个体生长过程中对不利环境的抵抗<sup>[38-39]</sup>。因此,中华绒螯蟹大规模亲本可能通过细胞凋亡的基因表达表现出较强

表 2 基于常见差异表达基因 (co - DEGs) 的路径富集分析

序号 ID	描述	P 值	基因数目	基因 IDs
ko04960	醛固酮调节钠的再吸收	0.000 351	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04210	细胞凋亡	0.000 449	3	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN1908_c0_g2、TRINITY_DN6686_c0_g1
ko04910	胰岛素信号通路	0.000 606	3	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1、TRINITY_DN608_c5_g1
ko04930	Ⅱ型糖尿病	0.001 092	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04923	脂肪细胞脂解的调节	0.001 726	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04213	长寿调节途径(多物种)	0.004 083	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04070	磷脂酰肌醇信号系统	0.004 444	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2026_c1_g1
ko04066	HIF - 1 信号通路	0.005 613	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04211	长寿调节通路	0.006 909	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04072	磷脂酶 D 信号通路	0.007 843	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04914	孕酮介导的卵母细胞成熟	0.008 330	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN605_c0_g2
ko04931	胰岛素抵抗	0.008 330	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04071	鞘脂信号通路	0.009 344	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN6686_c0_g1
ko04145	吞噬体	0.009 871	2	TRINITY_DN1908_c0_g2、TRINITY_DN2026_c1_g1
ko04068	FoxO 信号通路	0.011 532	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04152	AMPK 信号通路	0.012 703	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04810	肌动蛋白细胞骨架的调节	0.017 890	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2026_c1_g1
ko04014	Ras 信号通路	0.019 308	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04140	自噬作用(动物)	0.020 773	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN6686_c0_g1
ko04015	Rap1 信号通路	0.022 284	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04150	mTOR 信号通路	0.023 841	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04151	PI3K - Akt 信号通路	0.028 778	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04060	细胞因子 - 细胞因子受体相互作用	0.034 430	1	TRINITY_DN35647_c0_g1
ko04932	非酒精性脂肪肝 (NAFLD)	0.038 816	2	TRINITY_DN13931_c0_g1、TRINITY_DN2717_c0_g1
ko04973	碳水化合物消化吸收	0.047 067	1	TRINITY_DN13931_c0_g1

的环境抗逆性,进而有利于自身及繁育后代在养殖过程中表现出优势。在本研究中该通路共涉及 3 个已验证的 co - DEGs,分别为 *TRINITY\_DN13931\_c0\_g1*、*TRINITY\_DN1908\_c0\_g2* 和 *TRINITY\_DN6686\_c0\_g1*。这些 co - DEGs 在细胞凋亡、胰岛素信号和 mTOR 信号通路中亦有富集。因此进一步推测, *TRINITY\_DN13931\_c0\_g1*、*TRINITY\_DN1908\_c0\_g2*

和 *TRINITY\_DN6686\_c0\_g1* 富集的细胞凋亡、胰岛素信号通路和 mTOR 信号通路可能与大规模亲本繁育优势有关。

4 结论

本研究为进一步探索大规模亲本在中华绒螯蟹育种中的优势奠定了重要的分子基础,相关数据

已上传 NCBI(登入号:PRJNA669606)。通过基于卵巢比较转录组差异表达基因分析,首次探讨了利用大规格亲本在生长、繁殖、免疫等方面潜在的分子优势。其中,凋亡通路、胰岛素信号通路和 mTOR 信号通路可能在中华绒螯蟹大规格亲本的优势育种中发挥重要作用。

# 参考文献:

- [1]赵乃刚. 河蟹育苗工厂化的进展[J]. 渔业现代化,1979,6(1): 34-35.
- [2]韩炳炎. 河蟹养殖高产技术问答[M]. 北京:中国农业出版社,1996.
- [3]虞丽娟,杨劲松,凌培亮,等. 基于物联网智慧服务的中华绒螯蟹蟹种质量动态追溯系统研究[J]. 水产学报,2013,37(8):1262-1269.
- [4]陈伟,王春,杨印璞,等. 中华绒螯蟹在西藏高原条件下越冬期生化组分的变化[J]. 上海海洋大学学报,2014,23(5):733-740.
- [5]张显良. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社,2019.
- [6]Cheng Y X, Wu X G, Yang X Z, et al. Current trends in hatchery techniques and stock enhancement for Chinese mitten crab, *Eriocheir japonica sinensis*[J]. Reviews in Fisheries Science,2008,16(1/2/3):377-384.
- [7]Wang Q D, Liu J S, Zhang S Y, et al. Sustainable farming practices of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) around Hongze Lake, Lower Yangtze River Basin, China[J]. Ambio, 2016, 45(3): 361-373.
- [8]王少兵,刘乃更,姜晓东,等. 三种亲本规格河蟹土池育苗的试验总结[J]. 科学养鱼,2019(6):12-13.
- [9]茅海成,王高龙,杨永超,等. 中华绒螯蟹不同规格亲蟹池塘生态育苗效果的生产性评估[J]. 水产科技情报,2014,41(5):233-236.
- [10]陈军伟,马旭洲,王武,等. 不同规格中华绒螯蟹母子代的生长特性比较[J]. 动物学杂志,2016,51(5):895-906.
- [11]何先林,姜晓东,王海宁,等. 池塘养殖不同规格中华绒螯蟹扣蟹生化组成的比较研究[J]. 水产科技情报,2019,46(6): 316-319,323.
- [12]张红水. 大亲本蟹苗养殖试验研究[J]. 乡村科技,2018(4): 110-111.
- [13]Ran M L, Chen B, Li Z, et al. Systematic identification of long noncoding RNAs in immature and mature porcine testes[J]. Biology of Reproduction,2016,94(4):77,1-9.
- [14]Andrews S. Babraham bioinformatics - FastQC a quality control tool for high-throughput sequence data[EB/OL]. [2021-06-20]. <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>.
- [15]Bankar K G, Todur V N, Shukla R N, et al. Ameliorated *de novo* transcriptome assembly using Illumina paired end sequence data with Trinity Assembler[J]. Genomics Data,2015,5:352-359.
- [16]Du Y H, Huang Q H, Arisdakessian C, et al. Evaluation of STAR and kallisto on single cell RNA-seq data alignment[J]. Genes, Genomes, Genetics,2020,10(5):1775-1783.
- [17]Robinson M D, McCarthy D J, Smyth G K. edgeR: a bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data[J]. Bioinformatics,2009,26(1):139-140.
- [18]Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  method[J]. Methods,2001,25(4):402-408.
- [19]Consortium G O. The Gene Ontology (GO) database and informatics resource[J]. Nucleic Acids Research,2004,32(S1):D258-D261.
- [20]Kanehisa M, Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. Nucleic Acids Research,2000,28(1):27-30.
- [21]Bao C C, Yang Y N, Huang H Y, et al. Inhibitory role of the mud crab short neuropeptide F in vitellogenesis and oocyte maturation via autocrine/paracrine signaling[J]. Frontiers in Endocrinology, 2018,9:390.
- [22]Dissous C. Venus kinase receptors at the crossroads of insulin signaling: their role in reproduction for helminths and insects[J]. Frontiers in Endocrinology,2015,6:118.
- [23]Nijhout H F, Riddiford L M, Mirth C, et al. The developmental control of size in insects[J]. Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology,2014,3(1):113-134.
- [24]Huang X S, Ye H H, Huang H Y, et al. An insulin-like androgenic gland hormone gene in the mud crab, *Scylla paramamosain*, extensively expressed and involved in the processes of growth and female reproduction[J]. General and Comparative Endocrinology,2014,204:229-238.
- [25]Huang X S, Feng B Y, Huang H Y, et al. *In vitro* stimulation of vitellogenin expression by insulin in the mud crab, *Scylla paramamosain*, mediated through PI3K/Akt/TOR pathway[J]. General and Comparative Endocrinology,2017,250:175-180.
- [26]Huang X S, Ye H H, Feng B Y, et al. Insights into insulin-like peptide system in invertebrates from studies on IGF binding domain-containing proteins in the female mud crab, *Scylla paramamosain*[J]. Molecular and Cellular Endocrinology,2015,416:36-45.
- [27]Wang L, Chen H, Wang L L, et al. An insulin-like peptide serves as a regulator of glucose metabolism in the immune response of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. Developmental & Comparative Immunology,2020,108:103686.
- [28]Sarbasov D D, Ali S M, Sabatini D M. Growing roles for the mTOR pathway[J]. Current Opinion in Cell Biology, 2005, 17(6): 596-603.
- [29]Jia K L, Chen D, Riddle D L. The TOR pathway interacts with the insulin signaling pathway to regulate *C. elegans* larval development, metabolism and life span[J]. Development, 2004, 131(16): 3897-3906.
- [30]Das S, Pitts N L, Mudron M R, et al. Transcriptome analysis of the molting gland (Y-organ) from the blackback land crab, *Gecarcinus lateralis*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics & Proteomics,2016,17:26-40.
- [31]Cosenza K S. Role of ecdysteroids on Myostatin and mTOR signaling gene expression in molt-dependent growth and atrophy of skeletal muscle in *Gecarcinus lateralis* and *Carcinus maenas*[D]. The Colorado State University Libraries,2016.
- [32]Shyamal S, Das S, Guruacharya A, et al. Transcriptomic analysis of

冯 花,王飞权,陈荣冰,等. 不同茶树新品系的武夷岩茶适制性鉴定[J]. 江苏农业科学,2021,49(23):173-184.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.23.031

# 不同茶树新品系的武夷岩茶适制性鉴定

冯 花<sup>1</sup>,王飞权<sup>1</sup>,陈荣冰<sup>1</sup>,张见明<sup>2</sup>,张 渤<sup>1</sup>,洪雅萍<sup>1</sup>,蒋 松<sup>1</sup>

(1. 武夷学院茶与食品学院/武夷学院茶叶科学研究所,福建武夷山 354300; 2. 武夷学院茶业国际研究中心,福建武夷山 354300)

**摘要:**以黄旦(CK)、0331-I(A<sub>1</sub>)、0331-F(A<sub>2</sub>)、0314-C(A<sub>3</sub>)、0325-A(A<sub>4</sub>)、0318E(A<sub>5</sub>)驻芽小开面3、4叶为原料,分别将其制成武夷岩茶,通过感官审评、生化与香气成分对比分析,探讨5个茶树新品系的武夷岩茶适制性。结果表明,武夷岩茶感官品质综合得分表现为A<sub>2</sub>(93.70分)>CK(92.25分)>A<sub>4</sub>(92.15分)>A<sub>3</sub>(91.30分)>A<sub>1</sub>(91.25分)>A<sub>5</sub>(88.30分),且各样品间综合得分差异显著。5个新品系所制武夷岩茶的生化成分含量与组成差异显著,其中A<sub>2</sub>生化品质最优,A<sub>1</sub>、A<sub>3</sub>、A<sub>4</sub>次之,A<sub>5</sub>较差。不同茶树新品系和黄旦的武夷岩茶样本中共检测出115个香气成分,其中CK、A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub>、A<sub>4</sub>、A<sub>5</sub>中分别检出91、102、97、98、101、98个香气成分,并以酯类、醇类和碳氢类化合物为主;基于所有样本的香气成分数据建立的PLS-DA模型,可有效区分CK、A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub>、A<sub>4</sub>、A<sub>5</sub>的武夷岩茶样本,并筛选出差异香气成分26个。综上,A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub>、A<sub>4</sub>均适制武夷岩茶,以A<sub>2</sub>综合品质最优,其汤色橙黄明亮、香气花果香馥郁、滋味醇厚回甘显。

**关键词:**茶树新品系;武夷岩茶;生化成分;香气成分;感官品质;适制性

**中图分类号:** TS272.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)23-0173-12

武夷岩茶品质卓越、风格独特,是我国十大名

茶之一,也是闽北乌龙茶的典型代表<sup>[1]</sup>。武夷岩茶优异品质的形成与茶树品种、加工工艺、生态环境等多个因素密切相关<sup>[2]</sup>,其中优良的茶树品种是形成武夷岩茶品质的关键因素,是内因<sup>[3]</sup>。在武夷山,人们十分重视茶树新品种(系)的引进,据统计,自20世纪初,武夷山陆续引进的茶树品种(系)达数十份<sup>[4]</sup>,其中福建水仙、黄观音、瑞香等茶树良种制武夷岩茶品质优异,广受茶叶生产者和消费者的青睐,从而丰富了武夷岩茶的加工用种和产品类型。与此同时,也有部分茶树新品种(系)因不适合

收稿日期:2021-08-05

基金项目:福建省科技厅引导性项目(编号:2019N0023);南平市自然科学基金联合资助项目(编号:2019J01);中央引导地方科技发展专项(编号:2021L3058、2019L3012、2020L3031);福建省科技厅科技创新平台项目(编号:2018N2004);福建省科技重点项目(编号:2017WJ002);南平市科技计划项目(编号:N2017Y01)。

作者简介:冯 花(1985—),女,甘肃舟曲人,硕士,讲师,从事茶叶加工与种质资源创新利用研究。E-mail:1468298447@qq.com。

通信作者:王飞权,博士,副教授,主要从事茶树种质资源与茶叶生物化学研究。E-mail:hanxi2000827@163.com。

crustacean molting gland (Y-organ) regulation via the mTOR signaling pathway[J]. Scientific Reports,2018,8(1):7307.

[33] Lum J J, Bauer D E, Kong M, et al. Growth factor regulation of autophagy and cell survival in the absence of apoptosis[J]. Cell, 2005,120(2):237-248.

[34] Li J S, Dong L X, Zhu D P, et al. An effector caspase Sp-caspase first identified in mud crab *Scylla paramamosain* exhibiting immune response and cell apoptosis[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2020,103:442-453.

[35] Johansson M W, Keyser P, Sritunyalucksana K, et al. Crustacean haemocytes and haematopoiesis[J]. Aquaculture,2000,191(1/2/3):45-52.

[36] Qu C, Sun J J, Xu Q S, et al. An inhibitor of apoptosis protein (EsIAP1) from Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* regulates

apoptosis through inhibiting the activity of EsCaspase-3/7-1[J]. Scientific Reports,2019,9(1):20421.

[37] Yan B Y, Liu X M, Zhou Y Q, et al. Transcriptomic analysis reveals that hepatopancreatic necrosis disease in *Eriocheir sinensis* (Chinese mitten crabs) may be the result of autophagy and apoptosis[J]. Aquaculture,2020,515:734579.

[38] Jin X K, Li W W, He L, et al. Molecular cloning, characterization and expression analysis of two apoptosis genes, caspase and nm23, involved in the antibacterial response in Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. Fish & Shellfish Immunology,2011,30(1):263-272.

[39] Jin X K, Li W W, Wang Q. Caspase and nm23: apoptosis genes linked to the antibacterial response of the Chinese mitten crab[J]. Bioengineered Bugs,2011,2(3):174-177.