

缪云亮,范旺远,陈柏湘,等.翘嘴鱥 *mstn* 和 *mtor* 基因 SNP 位点鉴定及其与生长性状的关联分析[J].华中农业大学学报,2025,44(5):126-133.DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2025.05.013

翘嘴鱥 *mstn* 和 *mtor* 基因 SNP 位点鉴定及其与生长性状的关联分析

缪云亮¹,范旺远^{1,2},陈柏湘²,何珊¹

1. 华中农业大学水产学院/华中农业大学鳜鱼研究中心,武汉 430070;

2. 广东海大集团股份有限公司,广州 511400

摘要 为获得与翘嘴鱥(*Siniperca chuatsi*)生长性状相关的分子标记,辅助选育鱥优良品种,基于翘嘴鱥生长基因 *mstn* 和 *mtor* 的基因组 DNA 序列开展单核苷酸多态性(SNP)位点鉴定,并对这些位点进行生长性状的相关性分析。结果显示,2 个基因筛查到 *mstn*-in2、*mtor*-in26 和 *mtor*-E11 共 3 个 SNP 位点,3 个 SNP 位点多态信息含量(PIC)为 0.280 8~0.372 9,在贵州和广东群体中均表现为中度多态性水平;标记-性状关联性分析显示:翘嘴鱥贵州群体中, *mstn*-in2 位点为 GG 基因型的个体,其全长、体长和体质量的平均值均显著高于该位点为 CC 基因型的个体($P<0.05$)。翘嘴鱥广东群体中, *mstn*-in2 位点为 GG 基因型的个体,其全长、体长、体高和体质量的平均值均显著高于该位点为 CC 基因型的个体($P<0.05$);*mtor*-in26 位点为 TT 基因型的个体,其全长、体质量、肥满度平均值均显著高于该位点为 TC 基因型和 CC 基因型的个体($P<0.05$)。以上结果表明, *mstn*-in2 位点 GG 基因型和 *mtor*-in26 位点 TT 基因型为生长优势基因型,可将 *mstn* 基因和 *mtor* 基因作为翘嘴鱥分子标记辅助育种的重要候选基因。

关键词 翘嘴鱥; 生长性状; *mstn* 基因; *mtor* 基因; 单核苷酸多态性(SNP)

中图分类号 S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2025)05-0126-08

鱥是一种原产于中国的经济鱼类,其肉质细嫩、味道鲜美、营养价值高,深受人们喜爱。翘嘴鱥(*Siniperca chuatsi*)是目前人工养殖鱥类最多的品种,而生长速度是养殖翘嘴鱥经济效益的关键因素,提高其生长速度有助于促进我国水产养殖业的健康可持续发展。但苗种繁育过程中长期缺乏亲本选择导致翘嘴鱥种质退化、生长速度下降。因此,迫切需要培育优良的翘嘴鱥品种,以满足日益增长的翘嘴鱥养殖产业需求。近年来,分子标记辅助育种技术因其快速、准确、不受干扰的特点,为鱼类优良品种选育提供了重要技术支持^[1]。

从早期的特异扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)分子标记、简单重复序列(simple sequence repeats, SSR)标记到单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)标记等分子标记技术,已在多种鱼类生长性状相关

位点筛选、性别鉴定等遗传育种和种质资源保护领域取得显著进展^[2-4]。SNP 标记在基因组中数量庞大,易于大规模检测,且具有高多态性,是一种辅助育种的理想分子标记。标记-性状关联性分析是一种通过比较 SNP 标记位点的基因型和选育物种目的性状的表型,进行关联性分析的方法^[5]。在群体中对 SNP 标记进行检验,若存在显著性差异,则说明该 SNP 标记与目的性状存在关联^[6]。在鱥中有关于 *igf* 和 *gh* 基因 SNP 分子标记和生长性状相关联的报道^[7-8]。花鲈(*Lateolabrax maculatus*)和齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)的研究同样证实,SNP 分子标记与鱼类生长性状存在显著关联性^[9-10]。

肌肉生长抑制素基因(myostatin, *Mstn*)最早在小鼠中被发现^[11],在骨骼肌中表达量最高,主要功能是抑制骨骼肌的生长,其突变或过表达均会影响个体的生长^[12]。在斑马鱼(*Danio rerio*)和白鲈(*Mo-*

收稿日期: 2024-05-25

基金项目:国家自然科学基金项目(32172951);大连海洋大学设施渔业教育部重点实验室项目(202317)

缪云亮, E-mail: yunliangmiao@163.com

通信作者: 何珊, E-mail: heshan@mail.hzau.edu.cn

rone chrysops)等鱼类中,该基因(*mstn*)已被克隆^[13]。雷帕霉素靶蛋白(mechanistic target of rapamycin, mTOR)是一种丝/苏氨酸激酶,可接收多种信号,包括能量利用、营养代谢以及生长发育等^[14]。此外, *mtor*还参与了蛋白质翻译和基因转录等多种细胞内的生物过程^[15],这些生物过程对机体的生长发育、营养代谢等方面都起到了至关重要的作用。但在鱥中尚未见对 *mstn* 和 *mtor* 基因 SNP 位点的鉴定及其性状相关分子标记开发的报道。

本研究主要针对翘嘴鱥 *mstn* 和 *mtor* 基因,通过直接分段扩增候选基因的方法,查找基因序列中的 SNP 位点,并采用标记-性状关联性分析的方法,鉴定出翘嘴鱥生长性状相关分子标记,旨在为辅助选育翘嘴鱥优良品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验样品采集

翘嘴鱥贵州群体 62 尾(幼鱼)和广东群体 88 尾(成鱼),分别取自贵州关岭现代渔业种业园区和广东省佛山市南海百容水产良种有限公司,翘嘴鱥群体均健康且状态良好,每个群体均为同批次孵化并在工厂化车间养殖,初始体质量为 17~20 g,其中贵州群体投喂“越群源”牌鱥饲料养殖 2 个月,终末体质量为(28.54±1.45) g;广东群体投喂海大鱥饲料养殖 10 个月,终末体质量为(587.89±29.96) g。取

样时分别测量其全长、体长、体高、体质量等数据,用于生长数据分析,并各取约黄豆粒大小的背部肌肉,于-80 °C 冰箱保存,用于后续基因组 DNA 的提取。

1.2 基因组 DNA 的提取

基因组 DNA 提取使用 SteadyPure Universal Genomic DNA Extraction Kit,具体方法步骤参考试剂盒说明书,并用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量。

1.3 PCR 扩增和 SNP 位点分型

以翘嘴鱥肌肉 DNA 为模板,根据 *mstn*(NCBI 登录号: NC_058053.1) 和 *mtor*(NCBI 登录号: NC_058051.1) 基因序列,利用 Primer Primier 5.0 软件设计引物,对 *mstn* 基因设计 6 对引物, *mtor* 基因设计 21 对引物(表 1 和 2),引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。PCR 扩增以广东和贵州个体基因组 DNA 为模板,PCR 反应体系为 20 μL,其中 Mix Taq Buffer 加 10 μL, ddH₂O 加 7 μL, 上、下游引物各 1 μL, DNA1 μL; 反应程序为: 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 30 s, 根据不同引物对应的退火温度退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 程序循环 30 次, 72 °C 延伸 10 min, 然后 4 °C 保持。合格的 PCR 产物混合样品测序后,用 DNAMNA8 软件比对序列,chromas 软件查看峰图,结合测序结果判定基因突变位点。通过 NCBI BLAST 查找突变位点信息,鉴定 SNP 位点。

表 1 *mstn* 基因的 6 对引物信息

Table 1 The information of 6 pairs of primers of the *mstn* gene

引物名称 Primer code	产物大小/bp PCR size	引物序列(5'-3') Primer sequence
mstn-1	977	F: CACAACCAGGCAGACACAGC R: GTTCAGTGGCCATCATCATTATTGTCT
mstn-2	371	F: CCGAGTCCATCGTCCAGGTG R: CAGTCCTCCTCTCCAGGCTCT
mstn-3	395	F: GTAAAGTTTTAATTCGATTGTTGGCA R: CTGGAGAGAGACAGAGAAAGCAAAGG
mstn-4	815	F: GTGAGCTGAACCTTATTTACACTAAACG R: CTGCAATGACAGAGCATGTGTGAA
mstn-5	892	F: CAACCATTATGGAGGTGAAGATC R: TTTCACTCTGAAAACATAACTGAAAAATGA
mstn-6	872	F: CCAGGAATCCTCATGGACCTT R: GAAACTTATTGTTAAAACAAGTATAGAGTTGC

1.4 遗传多样性和性状相关性分析

利用 Popgen32 软件对 SNP 位点进行等位基因频率、基因型频率、观测杂合度(observed heterozygosity, *Ho*)、期望杂合度(expected heterozygosity,

He)、有效等位基因数(effective number of alleles, *Ne*)和多态信息含量(polymorphism information content, *PIC*)等遗传参数的分析。同时根据等位基因频率计算出每一基因型的理论频数,从而进行群体

表2 *mtor*基因的21对引物信息Table 2 The information of 21 pairs of primers of *mtor* gene

引物名称 Primer code	产物大小/bp PCR size	引物序列(5'-3') Primer sequence
mtor-1	1 200	F: GGAGACGGTCCAACTCAGC R: TCTCACGCTAATTCCACCGA
mtor-2	550	F: CCACAGTTAACAGCTGATATTAAAAA R: AGCTAGACCAGTCACGAATCC
mtor-3	1 050	F: AATAATATAATAACTGCTGAGTGATGTC R: CAGGTAAAACGCATAGAGCTGC
mtor-4	750	F: AAAAGGGATCTACTTCAGCAC R: TGTGTAGTAAGACAATAACTATTAAAAT
mtor-5	900	F: TAACTCTAAATGTATATTGGGTTG R: CCTATGATGTTTGCCCTGATGTC
mtor-6	900	F: TTATCTGTATTACTGCCCTAACCTG R: CTTACAAATTGACTGAGGAAGACTG
mtor-7	1 550	F: AGATCTTAGTGCACAGAAATTGGAC R: AAAAAGTTAACGCTAACATTCTG
mtor-8	600	F: AGGTGTTGTATGATTAATTGTAGCAA R: TGGAAAATAAGAGGGCTGGAT
mtor-9	1 497	F: GCTCTCCTTGCAGCTGCTC R: AATGTCATTATCCTTCTGACCTTC
mtor-10	1 000	F: TAGTAGAAGTCACTAGGTCTTCTG R: AGTCTAAATGTATCACAGTGATTCTG
mtor-11	400	F: ACAAACACGTTTGCTATGTGATG R: AAGGTGCCAGGTGTGGATGAG
mtor-12	1 000	F: TGAACATGGACTAACAAATTATTG R: ATGTACATTAAATAGGAGGAATCTTA
mtor-13	950	F: ATGTTAAATTGTCATTGTTATGTG R: AGCCTTCCAACATCTGCTTAC
mtor-14	1 100	F: TGGGCAAGTTTCTTAATAAGTA R: TGGGCAATGCAGAGACTGTAG
mtor-15	1 150	F: CCTACAGTCAACACCTACAGTA R: TTTGCTTCTAAGTAAAGGATGAAG
mtor-16	1 250	F: TTATACCTCTGAGTTTGAGGG R: AGGCAGACTGCAGTGGTTATTA
mtor-17	400	F: TTTAGGCAGTGGCAGGAG R: TCTAAATGCGATGGCCCACGC
mtor-18	700	F: CCTGGAGAAAACAGCCAGTAC R: ACCAACATATGTAGGCAGGAAAT
mtor-19	1 250	F: ATATTGTTCACATTGAAAGTGTG R: TCTGTTAAATAACTTTGACTTCAA
mtor-20	1 350	F: TTCATGTACCAACACAAGACAGAAA R: TATGAAAGCAAGAGAACTTGGTATTG
mtor-21	1 528	F: GATGCCAGCCTGTTGTGTTT R: TGGTATCTGTACAGGGTTAATGG

Hardy-Weinberg平衡状态的卡方检验。

运用SPSS软件对SNPs位点的不同基因型与翘嘴鱲生长性状进行单因素方差分析,以SNPs位点的

不同基因型作为因子,以翘嘴鱲的全长、体长、体高、体质量和肥满度等生长性状作为因变量,检验不同基因型之间在各生长性状之间表现出的差异性。

2 结果与分析

2.1 翘嘴鱥 *mstn* 和 *mtor* 基因中候选 SNP 标记的鉴定

利用 *mstn* 基因引物进行 PCR 扩增, 得到 *mstn* 基因的基因组全序列(包括 2 个内含子和 3 个外显子)。利用 *mtor* 基因的 21 对引物进行 PCR 扩增, 获得 *mtor* 基因的大部分外显子序列以及少部分内含子序列(共 58 个外显子和 57 个内含子, 扩增得到 47 个外显子和 27 个内含子)。

将测序结果用 DNAMNA8 软件进行序列比对, 结果显示在 *mstn* 基因的第 2 个内含子上存在 1 个碱基的突变位点, 位于第 2 个内含子的第 255 个碱基(*mstn*-in2), 突变碱基为 G→C, 为错义突变。在 *mtor* 基因的第 26 个内含子的第 48 个碱基(*mtor*-in26)和第 11 个外显子的第 16 个碱基(*mtor*-E11)处各发现 1 个突变位点, 突变碱基分别为 T→C 和 G→T, 其中 *mtor*-in26 位点为错义突变, *mtor*-E11 位点为同义突

变。*mstn*-in2、*mtor*-E11 和 *mtor*-in26 位点均存在 3 种基因型, 分别为(GG、CG 和 CC)、(GG、GT 和 TT)和(TT、TC 和 CC)。

2.2 SNP 位点基因型

将 *mstn* 和 *mtor* 基因中的 3 个位点(*mstn*-in2、*mtor*-E11 和 *mtor*-in26)在贵州和广东 2 个群体中进行检测, 结果显示(表 3)3 个 SNP 位点在 2 个群体中均发现存在杂合和纯合型突变。贵州群体中, *mstn*-in2 位点的杂合突变频率最高, 为 0.513 9; *mtor*-in26 位点有较多的杂合型和纯合型突变个体, 其中杂合型突变的频率为 0.458 3, 纯合型突变的频率为 0.347 2; 而 *mtor*-E11 位点只有 2 个纯合突变个体, 总突变频率为 0.402 8。广东群体中, *mstn*-in2 位点杂合型突变个体较多, 突变频率为 0.409 1; *mtor*-in26 位点为杂合型突变个体最多, 突变频率为 0.409 1; 而 *mtor*-E11 位点的突变型个体较少, 总突变频率为 0.375 0, 其中杂合型突变频率为 0.306 8。

表 3 3 个 SNP 位点在 2 个群体中的基因型检测结果

Table 3 Genotype detection results of three SNP loci in two populations

位点 SNP site	基因型 Genotype	贵州群体 Guizhou population		广东群体 Guangdong population	
		样本数 Number of samples	基因型频率 Genotype frequency	样本数 Number of samples	基因型频率 Genotype frequency
<i>mstn</i> -in2	GG	21	0.291 7	38	0.431 8
	GC	37	0.513 9	36	0.409 1
	CC	14	0.194 4	14	0.159 1
<i>mtor</i> -in26	TT	14	0.194 5	22	0.250 0
	TC	33	0.458 3	36	0.409 1
	CC	25	0.347 2	30	0.340 9
<i>mtor</i> -E11	GG	43	0.597 2	55	0.625 0
	GT	27	0.375 0	27	0.306 8
	TT	2	0.027 8	6	0.068 2

2.3 SNP 位点遗传多样性

采用 Popgen32 软件和 PIC_CALC 软件将分型成功的 3 个 SNP 位点在 2 个群体中进行特征分析, 并进行 Hardy-Weinberg 平衡检测, 结果显示(表 4), 在 2 个群体中 3 个 SNP 位点突变等位基因频率在 0.215 3~0.576 3, *mtor*-E11 位点在 2 个群体的突变等位基因概率相对较低; 各个位点的多态信息含量(PIC)在 0.280 8~0.372 9, 均属于中度多态性($0.25 < \text{PIC} < 0.5$)水平; 并且根据卡方检验, 各个位点的 Hardy-Weinberg 平衡(P-HW)值在 0.067 4~0.773 1, 均大于 0.05, 未偏离 Hardy-Weinberg 平衡状态。

2.4 生长性状与 SNP 标记相关性

将具有多态性的 SNP 位点进行 SNP 位点基因

型和生长性状的关联分析, 结果如表 5 所示。对于贵州群体, 在 *mstn*-in2 位点, GG 基因型的个体与 CC 基因型的个体的生长性状(全长、体长、体质量)存在显著性差异($P < 0.05$), GC 基因型个体与其他 2 种基因型个体没有显著性差异; 在 *mtor*-in26 位点和 *mtor*-E11 位点, 各种基因型的个体在全长、体长、体高、体质量和肥满度上均没有显著性差异。而广东群体中, 在 *mstn*-in2 位点, GG 基因型个体的全长、体长、体高和体质量的平均值都显著高于该位点为 CC 基因型的个体($P < 0.05$), GC 基因型个体与其他 2 种基因型个体没有显著性差异; 在 *mtor*-in26 位点, TT 基因型个体的全长、体质量和肥满度都显著高于该位点为 TC 基因型和 CC 基因型的个体($P < 0.05$), TT

表4 3个SNP位点在2个群体中的遗传多样性

Table 4 Genetic diversity of three SNP loci in two populations

位点 SNP site	群体 Population	等位基因频率 Allele frequency		Ne	Ho	He	PIC	P-HW
		A	B					
mstn-in2	广东 Guangdong	0.664 3	0.335 7	1.861 5	0.409 1	0.465 5	0.357 7	0.252 8
	贵州 Guizhou	0.548 6	0.451 4	1.981 3	0.513 9	0.498 7	0.372 6	0.067 4
mtor-in26	广东 Guangdong	0.545 4	0.454 6	1.983 6	0.409 1	0.498 7	0.372 9	0.372 9
	贵州 Guizhou	0.423 7	0.576 3	1.954 4	0.458 3	0.491 7	0.369 1	0.773 1
mtor-E11	广东 Guangdong	0.778 4	0.221 6	1.526 7	0.306 8	0.346 9	0.285 5	0.272 6
	贵州 Guizhou	0.784 7	0.215 3	1.510 3	0.375 0	0.340 2	0.280 8	0.773 1

注:Ne表示有效等位基因数, Ho表示观测杂合度, He表示期望杂合度, PIC表示多态信息含量, P-HW表示哈迪温格尔平衡。Note: Ne stands for the number of effective alleles, Ho stands for observed heterozygosity, He stands for expected heterozygosity, PIC stands for polymorphic information content, P-HW stands for Hardewigel equilibrium.

表5 翘嘴鱲2个群体mstn和mtor基因SNPs不同基因型与生长性状相关分析

Table 5 Correlation analysis between different genotypes of mstn and mtor SNPs and growth traits of *Siniperca chuatsi* in two populations

群体 Population	位点 SNP site	基因型 Genotype	全长 Total length	体长 Body length	体高 Body height	体质量 Body weight	肥满度 Condition factor
贵州 Guizhou	mstn-in2	GG	13.03±0.37a	10.97±0.31a	3.67±0.15	30.46±3.79a	2.11±0.13
		GC	12.71±0.22ab	10.73±0.18ab	3.53±0.11	27.53±1.89ab	2.10±0.07
		CC	11.86±0.33b	10.19±0.23b	3.36±0.12	22.17±2.51b	1.93±0.10
	mtor-in26	TT	12.46±0.36	10.56±0.27	3.55±0.13	24.90±3.14	1.96±0.13
		TC	12.33±0.27	10.50±0.21	3.44±0.10	25.90±2.16	2.06±0.08
		CC	12.80±0.27	10.80±0.21	3.57±0.12	28.27±2.53	2.09±0.09
	mtor-E11	GG	12.63±0.24	10.76±0.18	3.53±0.10	28.35±1.93	2.12±0.06
		GT	12.32±0.24	10.40±0.19	3.45±0.09	23.47±2.19	1.93±0.09
		TT	12.80±0.64	10.58±0.57	3.72±0.47	28.68±8.89	2.33±0.36
广东 Guangdong	mstn-in2	GG	33.29±0.65a	29.12±0.53a	10.61±0.26a	671.45±46.69a	2.55±0.07
		GC	31.67±0.72ab	27.80±0.69ab	10.10±0.32ab	563.47±47.11ab	2.41±0.06
		CC	29.84±0.94b	26.02±0.89b	9.03±0.37b	423.85±43.39b	2.31±0.02
	mtor-in26	TT	34.47±0.81a	30.14±0.73a	10.95±0.33a	769.65±59.73a	2.69±0.09a
		TC	31.80±0.72b	27.96±0.66ab	10.14±0.31ab	572.43±48.36b	2.40±0.06b
		CC	30.65±0.69b	26.73±0.59b	9.46±0.29b	473.14±36.26b	2.34±0.06b
	mtor-E11	GG	31.85±0.55	27.91±0.49	9.98±0.23	571.74±38.09	2.43±0.05
		GT	32.22±0.91	28.20±0.83	10.15±0.37	602.48±58.44	2.45±0.08
		TT	33.51±1.13	29.21±0.96	11.15±0.47	670.13±58.08	2.67±0.16

注:表中数值为平均值±标准误差。同一群体同一列数值中,含有相同字母表示2种基因型之间差异不显著($P>0.05$),不同字母代表差异显著($P<0.05$)。Note: The composition of values in the table is the mean ± standard error. In the same column of values, the same letters indicated no significant difference between the two genotypes ($P>0.05$), while different letters indicated significant difference ($P<0.05$).

基因型个体的体长和体高值显著高于该位点为CC基因型个体($P<0.05$);在mtor-E11位点,3种基因型个体之间没有显著性差异。

进行基因分型,3个位点在2个群体中均可成功分型,结果显示每个位点均保持了较高的突变率,并且在2个群体中各个位点的突变率相似,表明这3个突变位点在各个群体中是比较稳定的。PIC是用来描述一个群体遗传多样性的指标,PIC越大,表明该位点可提供的遗传信息也就越多,其杂合子的比例也就相对较高^[16]。在本研究中,各个位点的PIC在0.280 8~

3 讨 论

在本研究中,通过直接测序的方法对已鉴定到的3个SNP位点(mstn-in2、mtor-in26和mtor-E11)

0.372 9, 均属于中度多态性($0.25 < \text{PIC} < 0.5$)水平。对于SNP标记来说, 这些位点的多态信息含量可以为该翘嘴鱥群体提供较为充分的遗传多样性信息。SNP标记之所以被认为有较高的多态性, 是因为它在基因组中数量很多, 多个SNP位点结合可以弥补单个SNP标记多态性低的缺点^[17]。在贵州和广东2个翘嘴鱥群体中, 3个SNP位点的平均多态信息含量分别为0.338 7和0.340 8, 表明2个群体都具有较为丰富的遗传多样性, 且贵州群体的遗传多样性水平更高。遗传杂合度反映群体遗传的相似度, 杂合度越高的群体遗传多样性也就越高^[18]。贵州和广东群体在3个位点的平均期望杂合度分别为0.437 0和0.443 5, 平均观测杂合度分别为0.449 0和0.375 0, 遗传杂合度的分析结果也表明贵州群体的遗传多样性要高于广东群体。

本研究通过分析SNP标记与翘嘴鱥生长性状的相关性, 发现 *mstn*-in2位点与生长速率存在显著关联。在贵州和广东群体中, GG基因型个体的生长速率均显著高于CC基因型个体($P < 0.05$), 表明 *mstn*-in2位点的纯合突变会对翘嘴鱥的生长速率产生负面影响。该位点位于 *mstn* 基因的第2个内含子中, 不参与氨基酸编码, 但可能对 *mstn* 基因的转录或mRNA剪切过程起到调控作用。这与先前的研究相一致, 如Chang^[19]的研究发现猪的肌球蛋白重链的内含子可以调节转录起始以增加基因表达。此外, Wang等^[20]的研究指出, CYP3A4基因内含子中的1个SNP位点可以显著影响该基因的功能。这些研究结果进一步支持了本研究的结论。

本研究发现 *mstn* 基因的SNP对贵州和广东群体的生长均有影响, 但与王志刚等^[21]对翘嘴红鮊的研究结果有所不同。在翘嘴红鮊中, *mstn* 基因的SNP位点, 对幼鱼生长有显著影响, 但对成鱼生长无影响, 这可能是由于 *mstn* 在不同生长阶段表达量的差异所致。有研究表明, 从动物胚胎时期生长至成年, 其体内 *Mstn* 的表达量大体呈现先升高后下降再升高的变化趋势^[22]。张世勇等^[23]对斑点叉尾鮰的研究也发现, *mstn* 基因内含子上的1个SNP位点与体质量和体长存在显著相关性。这些研究均表明, *mstn* 基因上的SNP位点与鱼类生长性能密切相关, 因此可将 *mstn* 基因作为翘嘴鱥分子标记辅助育种的重要候选基因。

在本研究中, 在 *mtor* 基因的第11个外显子的第16个碱基上发现了 *mtor*-E11位点, 然而, 该位点与翘

嘴鱥贵州和广东群体的生长性状无显著相关性。BLAST分析结果显示, 该位点为同义突变, 即该碱基的突变并未导致氨基酸序列的变化, 因此推测该位点的突变对翘嘴鱥的生长性状未产生影响。这与目前的主流观点相一致, 即同义突变是一种中性突变^[24]。但是, Shen等^[25]研究发现, 在酵母模型中, 大多数同义突变都是非中性的。这是因为同义突变虽然不会改变蛋白质结构, 也会通过改变mRNA水平, 影响蛋白质表达水平^[26-27], 进而影响动物的表型性状^[28], 但在本研究中并未观察到这一现象。然而, 在 *mtor* 基因的第26个内含子的第48个碱基上, 存在1个突变位点 *mtor*-in26。在翘嘴鱥广东群体中, TT基因型的个体在全长、体质量和肥满度等方面均显著高于该位点为TC基因型和CC基因型的个体($P < 0.05$)。此外, TT基因型个体与CC基因型个体在体长和体高上存在显著差异($P < 0.05$)。mTOR是PI3K/AKT/mTOR信号通路中的下游靶蛋白之一, 与细胞生长和增殖密切相关^[29-30]。周乐等^[31]的研究也证实了该信号通路是调控细胞生长功能的重要信号通路之一, 并对动物的能量代谢和生长发育具有重要影响。由此可见, 在 *mtor* 基因上发现的与翘嘴鱥生长性状相关的SNP位点可作为分子标记辅助育种的候选位点。

综上, 本研究在 *mstn* 和 *mtor* 基因上共发现3个SNP位点, 分别为 *mstn*-in2、*mtor*-in26 和 *mtor*-E11位点。通过翘嘴鱥贵州和广东群体验证发现, *mstn*-in2位点GG基因型和 *mtor*-in26位点TT基因型为生长优势基因型, 可将 *mstn* 基因和 *mtor* 基因作为翘嘴鱥分子标记辅助育种的重要候选基因。

参考文献 References

- [1] 陈松林, 徐文腾, 卢昇, 等. 水产育种生物技术发展战略研究 [J]. 中国工程科学, 2023, 25(4): 214-226. CHEN S L, XU W T, LU S, et al. Development strategy for aquatic breeding biotechnology [J]. Strategic study of CAE, 2023, 25(4): 214-226 (in Chinese with English abstract).
- [2] CHEN S L, LI J, DENG S P, et al. Isolation of female-specific AFLP markers and molecular identification of genetic sex in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) [J]. Marine biotechnology, 2007, 9(2): 273-280.
- [3] 罗相忠, 时乐, 沙航, 等. 鲢微卫星标记与生长性状的相关分析 [J]. 淡水渔业, 2022, 52(6): 17-25. LUO X Z, SHI L, SHA H, et al. Correlation analysis of the microsatellite markers with growth traits of silver carp [J]. Freshwater fisheries, 2022, 52(6): 17-25 (in Chinese with English abstract).

- [4] 黄健玲, 杨子敏, 王雨欣, 等. 石斑鱼PPAR- δ 基因SNP位点和单倍型与抗虹彩病毒和神经坏死病毒抗性的关联[J]. 华南农业大学学报, 2023, 44(3): 391-401. HUANG J L, YANG J M, WANG Y X, et al. Development strategy for aquatic breeding biotechnology[J]. Journal of South China Agricultural University, 2023, 44(3): 391-401 (in Chinese with English abstract).
- [5] SONG Q J, HYTEN D L, JIA G F, et al. Development and evaluation of SoySNP50K, a high-density genotyping array for soybean [J/OL]. PLoS One, 2013, 8(1): e54985 [2024-05-25]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054985>.
- [6] FERNÁNDEZ-BARROSO M Á, SILIÓ L, RODRÍGUEZ C, et al. Genetic parameter estimation and gene association analyses for meat quality traits in open-air free-range Iberian pigs [J]. Zeitschrift für tierzuchtung und zuchtungsbiologie, 2020, 137(6): 581-598.
- [7] 王海芳. 鲈生长相关基因的SNPs及其与生长性状的相关性研究[D]. 广州: 中山大学, 2014. WANG H F. SNPs identification of growth-related genes and correlation analysis on growth traits in sinipercid species [D]. Guangzhou: Sun Yat-sen University, 2014 (in Chinese with English abstract).
- [8] TIAN C X, YANG M, LV L Y, et al. Single nucleotide polymorphisms in growth hormone gene and their association with growth traits in *Siniperca chuatsi* (Basilewsky) [J]. International journal of molecular sciences, 2014, 15(4): 7029-7036.
- [9] 陶欣, 邱丽华, 张博, 等. 花鲈 *igf3* 基因SNP位点的鉴定及其与生长性状的关联分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2024, 43(1): 109-116. TANG X, QIU L H, ZHANG B, et al. SNPs detection of *igf3* gene and its association with growth traits in *Lateolabrax maculatus* [J]. Genomics and applied biology, 2024, 43(1): 109-116 (in Chinese with English abstract).
- [10] 杨月静, 向梦斌, 叶祥益, 等. 齐口裂腹鱼SNP标记与生长性状的关联分析[J]. 中国水产科学, 2018, 25(2): 278-285. YANG Y J, XIANG M B, YE X Y, et al. Association analysis between SNP markers and growth-related traits in *Schizothorax prenanti* [J]. Journal of fishery sciences of China, 2018, 25(2): 278-285 (in Chinese with English abstract).
- [11] MCPHERRON A C, LAWLER A M, LEE S J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member [J]. Nature, 1997, 387(6628): 83-90.
- [12] GRAHAM Z A, DE GASPERI R, BAUMAN W A, et al. Recombinant myostatin reduces highly expressed microRNAs in differentiating C2C12 cells [J]. Biochemistry and biophysics reports, 2017, 9: 273-280.
- [13] DU F K, XU G C, NIE Z J, et al. Molecular characterization and differential expression of the myostatin gene in *Coilia nasus* [J]. Gene, 2014, 543(1): 153-160.
- [14] LIU G Y, SABATINI D M. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease [J]. Nature reviews molecular cell biology, 2020, 21(4): 183-203.
- [15] HUANG S L. mTOR signaling in metabolism and cancer [J/OL]. Cells, 2020, 9(10): 2278 [2024-05-25]. <https://doi.org/10.3390/cells9102278>.
- [16] SHETE S, TIWARI H, ELSTON R C. On estimating the heterozygosity and polymorphism information content value [J]. Theoretical population biology, 2000, 57(3): 265-271.
- [17] KRUGLYAK L. Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes [J]. Nat genet, 1999, 22(2): 139-144.
- [18] QIN Y, SHI G, SUN Y. Evaluation of genetic diversity in *Pampus argenteus* using SSR markers [J]. Genetics and molecular research, 2013, 12(4): 5833-5841.
- [19] CHANG K C. Critical regulatory domains in intron 2 of a porcine sarcomeric myosin heavy chain gene [J]. Journal of muscle research & cell motility, 2000, 21(5): 451-461.
- [20] WANG D, GUO Y, WRIGHTON S A, et al. Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs [J]. The pharmacogenomics journal, 2010, 11(4): 274-286.
- [21] 王志刚, 李贤露, 蒋泽元, 等. 翘嘴红鲌 *mstn-1* 基因多态性及其与早期生长性状和肌肉成分关联分析[C]//浙江省动物学会第十三次会员代表大会暨学术研讨会论文. 宁波: 浙江省动物学会, 2018: 45. WANG Z G, LI X L, JIANG Z Y, et al. Polymorphisms of the *mstn-1* gene and their association with early growth traits and muscle composition in topmouth culter (*Culter alburnus*) [C]// Proceedings of the 13th Member Congress and Symposium of Zoological Society of Zhejiang. Ningbo, Zhejiang: Zoological Society of Zhejiang, 2018: 45 (in Chinese).
- [22] PARSONS S A, MILLAY D P, SARGENT M A, et al. Age-dependent effect of myostatin blockade on disease severity in a murine model of limb-girdle muscular dystrophy [J]. The American journal of pathology, 2006, 168(6): 1975-1985.
- [23] 张世勇, 王明华, 钟立强, 等. 斑点叉尾鮰 *mstn* 基因4个SNP位点及其与生长性状的相关性[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(1): 30-33. ZHANG S Y, WANG M H, ZHONG L Q, et al. Association of four SNP loci in the *mstn* gene with growth traits in *Ictalurus punctatus* [J], 2017, 45(1): 30-33 (in Chinese).
- [24] KIMURA M. Genetic variability maintained in a finite population due to mutational production of neutral and nearly neutral isoalleles [J]. Genetical research, 1968, 11(3): 247-270.
- [25] SHEN X K, SONG S L, LI C, et al. Synonymous mutations in representative yeast genes are mostly strongly non-neutral [J]. Nature, 2022, 606(7915): 725-731.
- [26] ZHOU Z P, DANG Y K, ZHOU M, et al. Codon usage is an important determinant of gene expression levels largely through its effects on transcription [J]. PNAS, 2016, 113(41): E6117-E6125.
- [27] PRESNYAK V, ALHUSAINI N, CHEN Y H, et al. Codon

- optimality is a major determinant of mRNA stability [J]. *Cell*, 2015, 160(6): 1111-1124.
- [28] XU Y X, ZHU Z Y, LO L C, et al. Characterization of two parvalbumin genes and their association with growth traits in Asian seabass (*Lates calcarifer*) [J]. *Animal genetics*, 2006, 37 (3): 266-268.
- [29] DE LA SERRANA D G, PÉREZ M, NANDE M, et al. Regulation of growth-related genes by nutrition in paralarvae of the common *Octopus* (*Octopus vulgaris*) [J/OL]. *Gene*, 2020, 747: 144670 [2024-05-25]. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144670>.
- [30] WEICHHART T. mTOR as regulator of lifespan, aging, and cellular senescence: a mini-review [J]. *Gerontology*, 2018, 64 (2): 127-134.
- [31] 周乐, 常晨城, 王宇, 等. PI3K/Akt/mtor 信号通路调控牛细胞生长作用的研究进展 [J]. *饲料研究*, 2022, 45(9): 138-142. ZHOU L, CHANG C C, WANG Y, et al. Research progress of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in regulating the growth of bovine cells [J], 2022, 45(9): 138-142 (in Chinese with English abstract).

Identification of SNPs in *mstn* and *mtor* gene of *Siniperca chuatsi* and their association with growth traits

MIAO Yunliang¹, FAN Wangyuan^{1,2}, CHEN Boxiang², HE Shan¹

1. *Huazhong Agricultural University College of Fisheries/Huazhong Agricultural University Chinese Perch Research Center, Wuhan 430070, China;*
2. *Guangdong HAID Group Co., Ltd., Guangzhou 511400, China*

Abstract To identify molecular markers associated with growth traits in mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) and to facilitate the selective breeding of superior varieties, single nucleotide polymorphism (SNP) loci were screened based on the genomic DNA sequences of the growth-related genes *mstn* and *mtor*. A subsequent correlation analysis between these loci and growth traits revealed the identification of three SNPs: *mstn*-in2, *mtor*-in26, and *mtor*-E11. The polymorphism information content (PIC) for these three SNPs ranged from 0.280 8 to 0.372 9, indicating moderate levels of polymorphism in both the Guizhou and Guangdong populations. Marker-trait association analysis revealed the following findings: In the Guizhou population, individuals with the GG genotype at the *mstn*-in2 locus exhibited significantly higher mean values for total length, body length, and body mass compared to those with the CC genotype ($P < 0.05$). Similarly, in the Guangdong population, individuals with the GG genotype at the *mstn*-in2 locus showed significantly higher mean values for total length, body length, body height, and body mass than those with the CC genotype ($P < 0.05$). Furthermore, in the Guangdong population, individuals with the TT genotype at the *mtor*-in26 locus exhibited significantly higher mean values for total length, body mass, and Fulton's condition factor compared to those with the TC or CC genotypes ($P < 0.05$). These findings indicate that the GG genotype at the *mstn*-in2 locus and the TT genotype at the *mtor*-in26 locus are advantageous for growth. Therefore, the *mstn* and *mtor* genes are proposed as important candidate genes for molecular marker-assisted breeding programs in mandarin fish.

Keywords *Siniperca chuatsi*; growth traits; *mstn* gene; *mtor* gene; single nucleotide polymorphism (SNP)

(责任编辑:边书京)