

Jin X Y, Han M M, Liu H J, *et al.* Differences in muscle metabolite between selected F_5 generation and non selected *Oncorhynchus masou* based on metabolomic analysis [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2026, 50(1): 012601. [金笑延, 韩明铭, 刘慧吉, 等. 基于代谢组学分析选育系 F_5 代与非选育系马苏大麻哈鱼肌肉代谢物的差异 [J]. 水生生物学报, 2026, 50(1): 012601.]

基于代谢组学分析选育系 F_5 代与非选育系马苏大麻哈鱼肌肉代谢物的差异

金笑延¹ 韩明铭² 刘慧吉² 曲桂娟¹ 牛小天¹ 郝永坤¹ 陈秀梅^{1*} 王桂芹^{1*}

(1. 吉林农业大学动物科学技术学院, 动物生产及产品质量安全教育部重点实验室, 现代农业技术教育部国际合作联合实验室, 长春 130118; 2. 吉林省水产科学研究院, 长春 130033)

摘要: 通过非靶向代谢组学技术探究选育对陆封型马苏大麻哈鱼(*Oncorhynchus masou*)肌肉代谢物的影响。选取非选育系陆封型马苏大麻哈鱼和选育系第5代(F_5)的陆封型马苏大麻哈鱼各10尾, 采集肌肉组织, 采用液质联用(LC-MS)技术进行非靶向代谢组学研究。比对其肌肉代谢物之间的区别, 设定 $P < 0.05$ 进行差异代谢物筛选(VIP值 > 1.0), 以两组中FC值 ≥ 1.5 和FC值 ≤ 0.667 为上调和下调代谢物, 通过KEGG数据库对代谢物进行通路注释, 对苯丙烷类生物合成和代谢途径、脂肪代谢途径和类花生酸类物质代谢途径进行分析。非选育的陆封型马苏大麻哈鱼和选育系 F_5 代陆封型马苏大麻哈鱼肌肉代谢物具有显著差异, 相对于非选育组肌肉, 选育组肌肉中有213个差异代谢物显著上调, 348个差异代谢物显著下调, 主要注释到次生代谢产物的生物合成、胆汁分泌和新陈代谢通路; KEGG气泡图数据分析表明苯丙烷类生物合成途径、苯丙氨酸代谢途径、脂肪代谢途径在选育对肌肉的生长过程中具有重要影响。选育对陆封型马苏大麻哈鱼肌肉代谢物具有显著的影响, 代谢组学分析结果表明, 选育后机体可能是通过苯丙烷类生物合成和代谢途径、甲烷代谢途径和类花生酸类物质代谢途径中DHA、EPA、AMPK和PPAR α 等代谢物的变化引起了肌肉营养品质优于非选育组。

关键词: 陆封种群; 选育群体; 非靶向代谢组学; 肌肉; 马苏大麻哈鱼

中图分类号: S961.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2026)01-012601-09

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0072 CSTR: 32229.14.SSSWXB.2025.0072



马苏大麻哈鱼(*Oncorhynchus masou*)是北太平洋水域太平洋鲑类之一^[1]。它的主要特点是在大麻哈鱼中具有最低的分布纬度, 最短的洄游距离, 以及能够最早达到性成熟, 在我国图们江、绥芬河、台湾大甲溪及日本等地域中均有分布^[2, 3]。马苏大麻哈鱼分为降海型和陆封型两种地理生态类群, 陆封型个体终生生活在淡水中, 但洄游群体与陆封型个体进行繁殖^[1, 4, 5]。由于其肉质柔嫩、口感细

腻、入口即化, 且具有较高的营养价值, 因此深受食客喜爱。近几十年来, 中国野生大麻哈鱼资源逐渐减少, 随着养殖和放养等保护工作的开展, 大麻哈鱼资源一直保持在相对较低的水平。但随着大麻哈鱼人工养殖技术的不断发展, 其养殖量和产值也在不断提高^[6]。目前马苏大麻哈鱼亲本仍然来自直接在江河中捕获的野生鱼, 或来自野生鱼繁殖培育的3、4代的苗种, 没有针对性的驯化和选育,

收稿日期: 2025-03-06; 修订日期: 2025-07-09

基金项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-46); 吉林省科技厅重点研发项目(20240303073NC); 吉林水产产业技术体系(JLARS-2025-130302)资助 [Supported by the earmarked fund for China Agriculture Research System (CARS-46); the Key R & D Project of the Science and Technology Department of Jilin Province (20240303073NC); the earmarked fund for JLARS-Aquaculture (JLARS-2025-130302)]

作者简介: 金笑延(1999—), 女, 博士; 主要从事水产动物营养与免疫调控研究。E-mail: jinxiaoyan0618@168.com

通信作者: 陈秀梅(1989—), 女, 博士, 副教授; 主要从事水生动物营养与免疫学研究。E-mail: chenxiumei523@126.com 王桂芹(1968—), 女, 教授, 博士生导师; 主要从事水产动物营养与免疫调控研究。E-mail: wgqjlau@aliyun.com *共同通信作者

其生长速度缓慢, 导致养殖风险增加, 养殖效益不稳定, 影响了养殖户的积极性。迄今为止, 对马苏大麻哈鱼的研究主要集中在繁殖性能^[5]、生态分布^[4]、表型性状^[7]、肌肉营养组成^[8]等方面。动物肌肉代谢能力与肌肉品质密切相关, 无氧代谢能力较高会加快肌肉pH下降的速度, 进而导致肌肉质地和持水性能较差^[9]。大西洋鲑(*Salmo salar*)肌肉的坚实质地与其通过增加脂肪的有氧代谢并减少糖类的无氧代谢来提供能量的能力有关^[10]。AMPK是生物能量代谢调节的关键分子, 被激活后可提高骨骼肌对葡萄糖的摄取, 促进葡萄糖和脂肪酸氧化等^[11]。结合脂肪酸通过调控AMPK通路改变动物骨骼肌代谢能力影响肌肉品质的报道, 本研究对陆封型马苏大麻哈鱼选育系F₅代与陆封型马苏大麻哈鱼非选育系(未经过选育的亲本, 一直留存并在基地养殖)通过非靶向代谢组学技术对马苏大麻哈鱼选育系与非选育系肌肉代谢物的差异进行对比分析, 以期开展陆封型马苏大麻哈鱼新品种的选育研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验所用选育系F₅代陆封型马苏大麻哈鱼体重为1000—1100 g, 为2龄性成熟雌鱼; 非选育的陆封型马苏大麻哈鱼体重为700—800 g, 为2龄性成熟雌鱼。选育系F₅代陆封型马苏大麻哈鱼和非选育系陆封型马苏大麻哈鱼均在自然光周期(通常为12h光照/12h黑暗), 水温为(9±1)℃, pH 7.3±0.1, 溶解氧为6.5 mg/L, 氨氮含量<0.1 mg/L的标准鱼池, 配备液态氧和循环水设备。在马苏大麻哈鱼体长未达到10 cm之前, 通常投喂新鲜卤虫饵料, 每天投放饵料4—6次, 随着体重的增加, 逐渐减少投喂次数。体长>10 cm后, 开始投喂自制湿性颗粒饵料。鱼体重在250 g以下时, 以湿性颗粒饵料为主, 日投喂3次, 日投喂量一般为鱼体重的4%—5%, 以饱食率80%—90%为准。当鱼体重>250 g时, 全程投喂人工配合饵料。所有后代均通过选择个体较大且优良的XY雄性亲本与XX雌性亲本杂交获得, 因而选育后代生长速度快且个体较非选育的更大。在鱼池中分别选取10尾选育系F₅代陆封型马苏大麻哈鱼(BSMS)和非选育的陆封型马苏大麻哈鱼(LLMS)作为样品。采集每尾鱼相同质量的背部去皮肌肉, 每两尾混为1个样品, 两组各得到5个样品, 并迅速放入液氮中进行速冻, 随后放置-80℃保存待用。

1.2 试验方法

组织样本处理和代谢物的提取 (1)取50 mg

组织, 加入200 μL预冷的水, 加入800 μL 1:1比例的甲醇和乙腈溶液。(2)研磨混匀, 放入超声波清洗机10min, -20℃冷冻30min。(3)12000 r/min、4℃离心15min, 取上清液850 μL真空浓缩至尽干。

色谱条件 配备有色谱柱(Waters HSS T3 1.7 μm 2.1 mm×100 mm, Thermo Fisher Scientific), 柱温为40℃, 流速为0.3 mL/min, 流动相A为0.1%甲酸; 流动相B为100%甲醇, 每个组分分析时间16min。色谱梯度洗脱程序见表1。

表1 色谱梯度洗脱程序

Tab. 1 Physiological and biochemical characteristics of three bacteria

时间 Time (min)	流动相 Amobile phase A (%)	流动相 Bmobile phase B (%)
0	98	2
1	98	2
5.5	0	100
14	0	100
14.1	98	2
16	98	2

质谱条件 使用质谱仪(Q Exactive™ Plus, Thermo Fisher Scientific)的UltiMate 3000 UHPLC系统(Dionex, Sunnyvale, CA, USA)进行LC-MS/MS分析。一级质谱参数: Resolution: 70000, AGCtarget: 1e6, MaximumIT: 50ms, Scanrange: 150 to 1500 m/z; 二级质谱参数: Resolution: 17500, AGCtarget: 1e5, MaximumIT: 50ms, TopN: 10, NCE/steppedNCE: 10、30、55。

数据注释条件 使用Progenesis QI 软件进行物质注释鉴定。首先, 将数据导入到Progenesis QI软件中进行预处理, 这一步有助于提高数据的准确性和可靠性, 在数据中提取特征峰, 并对这些峰进行定性和定量分析。然后进行特征对齐, 软件会对不同样本之间的特征进行对齐, 以确保在不同样本中识别出相同的化合物。最后进行定性分析, 通过对比数据库中的化合物谱图或基于其他鉴定方法, 对样本中的特征峰进行定性分析。软件会将特征峰与已知的化合物进行匹配, 识别出样本中的化合物。主要条件是一级质量偏差为12 ppm, 保留时间偏差为0.1min; 二级质量偏差为20 ppm, 保留时间偏差为0.1min。

1.3 数据统计分析

通过武汉影子基因科技有限公司Omicsmart代谢组分析平台进行偏最小二乘判别(PLS-DA)分析和正交-偏最小二乘判别(OPLS-DA)分析后再进行不同组间的差异代谢物分析(VIP≥1、T-test P<

0.05)^[12], 利用R语言 pheatmap包进行数据z-score标准化后的聚类热图分析, 利用corrplot包进行差异代谢物富集通路分析。

2 结果

2.1 多元统计分析

为避免其他因素影响, BSMS和LLMS组的肌肉组织代谢物数据使用了有监督的PLS-DA和OPLS-DA (图 1A和1B)。两种得分图显示, BSMS组样本点在右侧, 而LLMS组样本点在左侧, 组内样本点聚集, 而组间样本点分散。如图 1C所示, 其R²_Y=0.994, Q²=0.871, 表示模型未发生拟合, 较为稳健可靠, 也表明了2组样本之间的差异化。

2.2 差异代谢物鉴定及分析

利用PLS-DA的VIP值和单变量分析中的FC值及P-value进行两组间差异代谢物分析, 结果如图 2火山图所示。共有561个代谢物注释到京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)数据库, 与LLMS组对比, BSMS组马苏大麻哈鱼肌肉中有213个差异代谢物显著上调, 348个差异代谢物显著下调。鉴定到的代谢物被分为7个大类, 如图 3所示, 新陈代谢这一大类中包含12个子类, 分别为脂质代谢、氨基酸代谢、化学结构转化图、辅因子和维生素的代谢、其他次级代谢产物的生物合成、碳水化合物代谢、萜类和聚酮类的代谢、核苷酸代谢、能量代谢、其他氨基酸的代谢、聚糖生物合成和代谢和外源性生物降解和代谢。其中脂质代谢通路代谢物数量最多

(42), 主要富集于生物体内脂质的分解、合成、运输与储存的过程, 如甘油三酯、磷脂、胆固醇、血浆脂蛋白等脂类物质的代谢, 受胰岛素、胰高血糖素、饮食营养、体内生化酶活性等复杂而精密的调控, 转变成身体各种精细生化反应所需要的物质成分。其次为氨基酸代谢通路的代谢物(16), 代谢物主要富集在蛋白质合成、非必需氨基酸的生成、脱氨基作用、脱羧基作用、一碳单位代谢和支链氨基酸代谢等。

2.3 差异代谢物聚类分析

对差异代谢物的相对含量进行定性, 并对两组样本进行层次聚类分析, 结果如图 4所示, 两组样本间具有清晰的聚类, 证明了PLS-DA模型区分选育和非选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉代谢产物差异的可靠性。其中前列腺素E₂、增殖蛋白、二十二碳五烯酸(EPA)、二十二碳六烯酸(DHA)、喹哌嗪、亮氨酸等在选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉中丰度显著高于非选育的。

2.4 差异代谢物KEGG富集分析

将筛选出的差异代谢物与KEGG数据库进行比对发现, 两组差异代谢物与86条代谢通路相关。从图 5可看出, 两组富集的Q值前20的pathway主要是苯丙烷类生物合成、苯丙氨酸代谢、甲烷代谢、类花生酸类物质合成、醚脂代谢、癌症中的胆碱代谢、新陈代谢等通路。

3 讨论

2龄性成熟的选育陆封型马苏大麻哈鱼和非

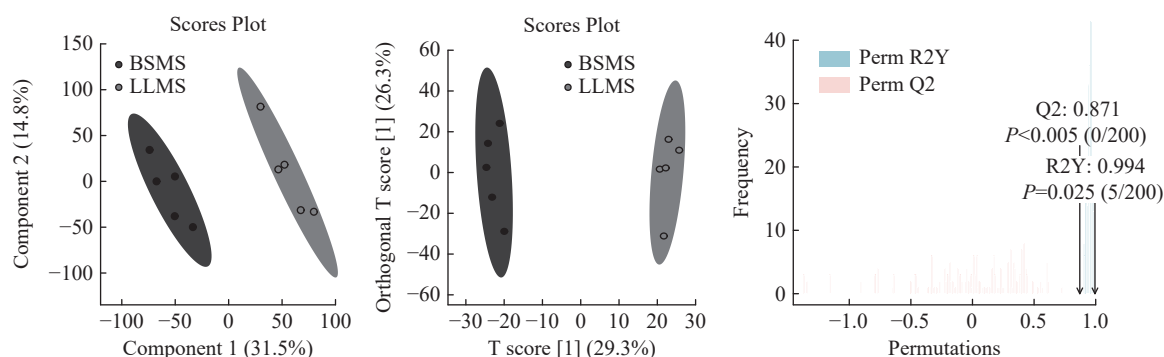


图 1 选育和非选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉组间多元统计分析

Fig. 1 Multivariate statistical analysis between muscle groups of selected and non selected landlocked *Oncorhynchus masou*

A和B中横坐标表示第一主成分解释度, 纵坐标表示第二主成分解释度; 点表示实验样本, 颜色表示不同分组; C中R²_Y和Q²分别代表模型可解释的变量和模型的可预测度, 图中横坐标代表打乱后样本分组和打乱前的样本分组的Spearman相关系数, 其中R²_Y相关性系数越接近1代表拟合效果越好, Q²是模型预测能力, 通常模型的Q²≥0.4被认为是模型可信的标准

In A and B, the abscissa represents the first principal component interpretation, and the second principal component interpretation in the ordinate direction; Points indicate experimental samples and colors indicate different groups; In C, R²_Y and Q² represent the model explanatory variables and model predictability, the Spearman correlation coefficient of samples after and before shuffling, R²_Y correlation coefficient closer to 1 represents the better the fitting effect, Q² reflects the model prediction ability, usually Q²≥0.4 is considered to be the credible standard of the model

选育陆封型马苏大麻哈鱼是发育相对成熟的阶段,其肌肉脂肪含量较高,是进行食用比较合适的时期,背部肌肉是食用的主要部位,在一定程度上,它代表了鱼肉的风味和营养价值。本试验基于非靶代谢组学技术检测了2龄性成熟的选育陆封型马苏大麻哈鱼和非选育陆封型马苏大麻哈鱼肌肉组织代谢物,所筛选的差异代谢物种类

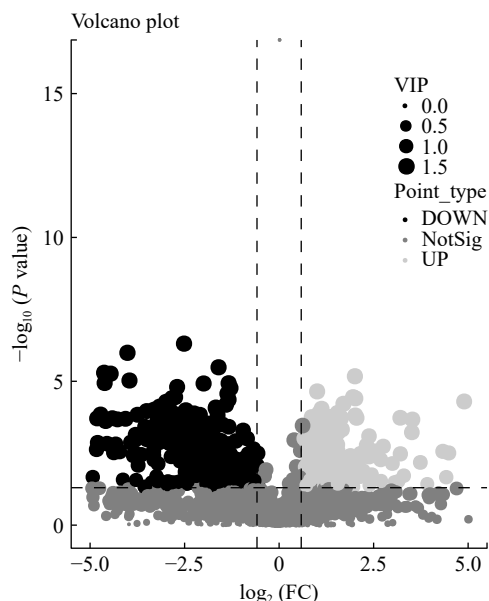


图2 差异代谢物层次火山图

Fig. 2 A hierarchical volcano plot of the differential metabolites

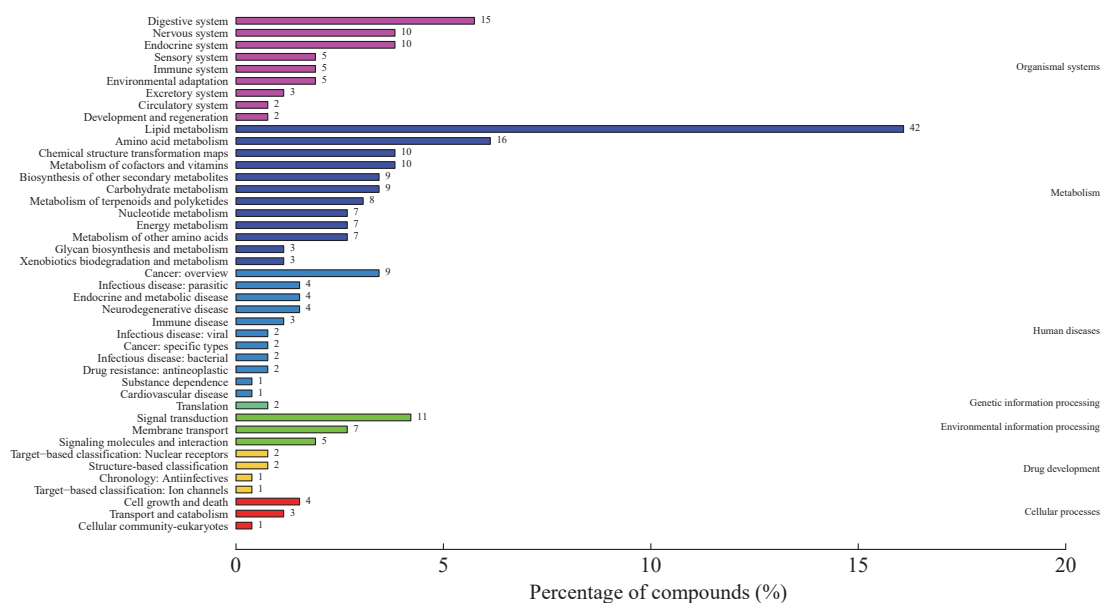


图3 鉴定到的代谢物KEGG分类柱状图

Fig. 3 Bar graph of KEGG classification of the identified metabolites

横坐标为每个代谢物类型的数目占总数目的百分比;左纵坐标为子类,右侧纵坐标为大类

The abscissa represents the percentage of each metabolite type in the total; The left ordinate indicates subclass, and the right ordinate indicates major classes

丰富,多集中在脂代谢类、氨基酸代谢类和消化系统类。

3.1 选育和非选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉组织脂质和类脂分子的差异性

脂质是肉类重要的风味前体,大部分的挥发性风味化合物来源于脂质的氧化分解,特别是不饱和脂肪酸的氧化降解可以产生丰富的风味化合物^[13]。本研究鉴定出的脂质分子中,花生四烯酰肉碱、DHA和EPA等均在选育的陆封型马苏大麻哈鱼上调,胆固醇、卵磷脂等在非选育的陆封型马苏大麻哈鱼中上调。DHA和EPA可以通过调节机体的能量代谢,维持细胞通透性等作用来维持鱼体的代谢,促进鱼体的生长等^[14, 15]。作为脂质代谢主要核受体的过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs),在机体的脂质转运、分解和合成中起着至关重要的作用,能够精准地调控脂质代谢^[16, 17]。PPAR α 作为PPARs家庭成员中的一员,调控脂质的分解代谢主要通过脂肪的 β 氧化和调节编码过氧化物酶体酶的靶基因来促进脂肪的分解^[18, 19]。本研究中DHA、EPA和PPAR α 在选育组中表达较高,DHA和EPA作为n-3长链多不饱和脂肪酸,能够显著降低脂肪的合成基因,而PPAR α 能够显著提高脂肪的分解基因。同时,不饱和脂肪酸通过激活单磷酸腺苷激活的蛋白激酶/沉默信息调节因子1/PPAR γ 共激活因子-1 α (AMPK/SIRT1/PGC-1 α)通路影响团头鲂(*Megalobrama*

KEGG classification

ma amblycephala) 肌纤维特性, 进一步提高肌肉品质^[20]。因此, 上述代谢物可能在脂代谢和糖代谢中发挥重要作用, 而其余脂质类物质的作用或影响还需进一步研究。卵磷脂有减少过量低密度脂蛋白的能力, 并可促进高密度脂蛋白颗粒的合成^[21]。上述脂类代谢物富集在与脂质代谢相关的多种途径, 其中不饱和脂肪酸的生物合成是一条重要的代谢途径, 有研究表明, 该途径在3—6龄中华鲮(*Pelodiscus sinensis*)的肌肉中表现出显著差异, 是影响鱼肉风味的重要途径^[22]。综上所述, 选育的陆封型马苏

大麻哈鱼的脂肪酸分解代谢水平优于非选育的陆封型马苏大麻哈鱼, 脂质分子的差异是导致非选育的陆封型马苏大麻哈鱼与选育的陆封型马苏大麻哈鱼风味差异的主要原因之一。

3.2 选育和非选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉组织氨基酸、多肽和类似物的差异性

肉中游离氨基酸的存在有助于舌头对五种基本味道的感知, 即酸、甜、苦、咸和鲜味^[23]。此外, 氨基化合物参与美拉德反应, 导致硫、氮和含氧化合物的形成, 这些化合物共同构成了熟肉的主要香

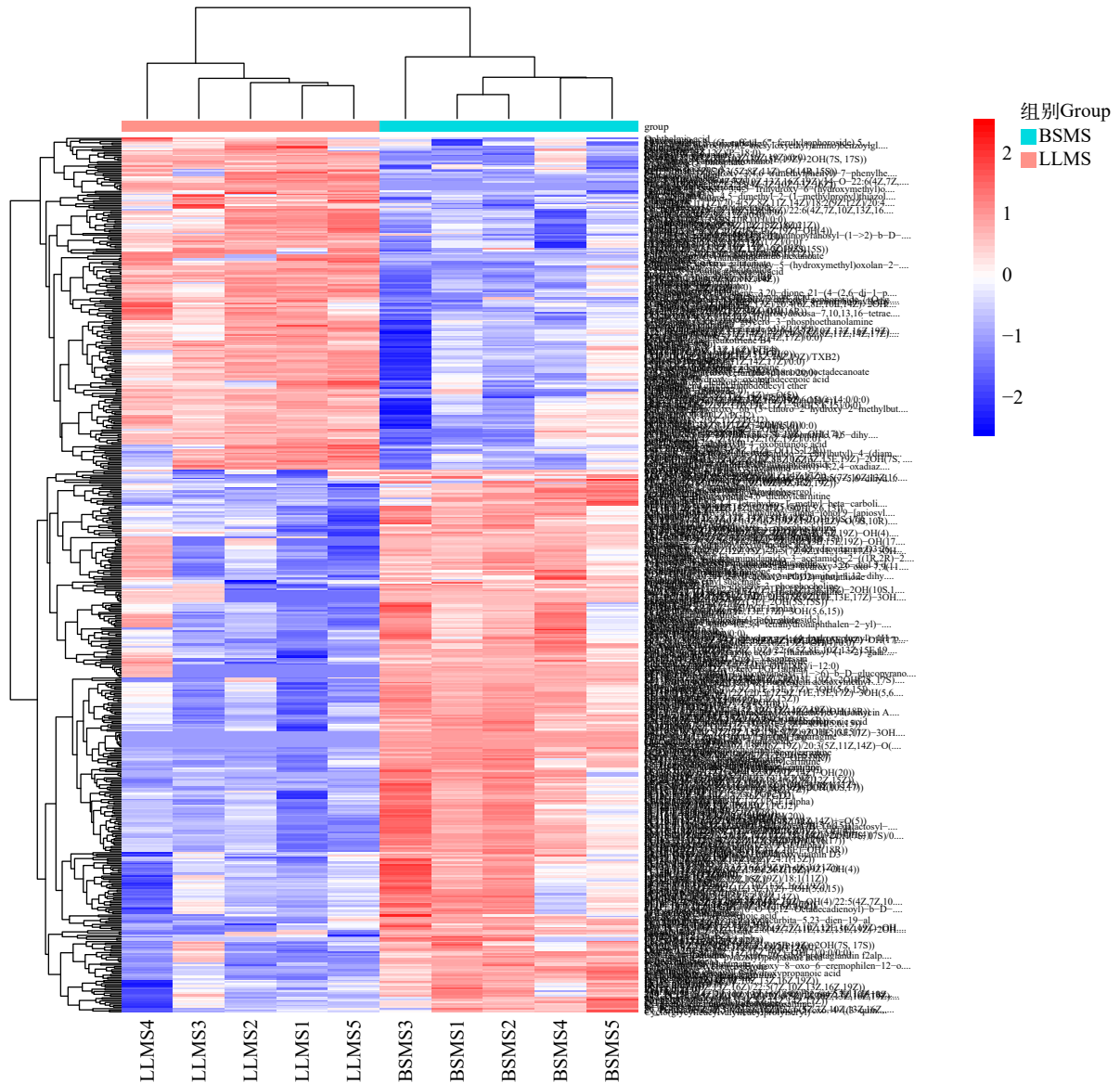


图4 差异代谢物层次聚类热图

Fig. 4 Heatmap of the hierarchical clustering of the differential metabolites

图中相对含量的大小通过颜色的不同来显示: 颜色越红表达量越高, 越蓝表达量越低; 其中列代表样本, 行代表代谢物名称; 图中左侧的聚类树为差异代谢物聚类树

The relative content in the figure is shown by different colors: the redder the color, the higher the expression level, the bluer the color, the lower the expression level; Columns represent samples, rows represent metabolite names, and the cluster tree on the left is the differential metabolite cluster tree

气^[24]。本研究鉴定出多种氨基酸及其类似物存在显著差异,其中,精氨酸是鱼类饲料蛋白中的天然成分,参与鱼体蛋白质代谢和多种物质合成^[25]。在KEGG分析中发现,有多条富集的通路均涉及氨基酸类物质代谢,其中天冬氨酸、赖氨酸、苏氨酸和谷氨酸代谢通路被证明是鱼肌肉风味形成的关键代谢途径^[26]。由此可见,不同种类和含量的氨基酸是造成非选育和选育的陆封型大麻哈鱼肌肉风味和品质差异的重要原因。此外,氨基酸是所有生命体和活细胞生存所必需的物质^[27],其主要的功效和作用包括调节生理功能、增强免疫力、维持营养平衡、提供能量等。近年来,增殖放流已被广泛用作恢复全球大麻哈鱼自然资源的重要手段^[28]。在自然环境下,陆封型马苏大麻哈鱼性成熟早于洄游

型群体并参与其繁殖,对维护种群的自然资源非常有益,是物种自我保护的一种适应。因此,陆封种群的资源状况对于整个马苏大麻哈鱼的总资源量极为重要,通过添加低成本结晶氨基酸制定适合马苏大麻哈鱼营养的饲料达到精确营养得到了很多关注,这就需要更好地了解陆封型马苏大麻哈鱼体内氨基酸的营养和代谢。

3.3 选育和非选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉组织有机酸及其衍生物的差异性

筛选出的有机酸及其衍生物中,牛磺酸、柠檬酸、丙酮酸等均在选育的陆封型马苏大麻哈鱼中上调表达。有研究表明,配合饲料中添加柠檬酸不仅可以增加养殖鱼类的食欲,提高其采食量,并促进养殖鱼类机体对配合饲料中营养物质的消化、吸收和利用,改善肠道菌群,而且可增强机体的抗应激能力和免疫能力^[29-33]。牛磺酸能提高水产动物的生产性能和繁殖性能,具有抗氧化、调节免疫、调节渗透压等作用^[34]。因此,在实际生产中,牛磺酸常被添加到高植物蛋白源饲料(低鱼粉)中,以缓解低鱼粉饲料所带来的不良效应^[35]。例如,在低鱼粉饲料中补充牛磺酸可以改善青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)的生长性能,这可能与牛磺酸修复肠道损伤和促进营养物质消化吸收的能力有关^[36]。牛磺酸在低鱼粉饲料中的补充对卵形鲳鲷(*Trachinotus ovatus*)的生长也具有一定影响,其中1.2%牛磺酸的添加使卵形鲳鲷的体重增长速度明显提高,对胰岛素样生长因子-1和胰岛素样生长因子-2在脑和肝脏的表达有显著的增加^[37]。上述一些有机酸在牛磺酸和亚牛磺酸代谢通路中显著富集。因此,推测出选育的陆封型马苏大麻哈鱼的肌肉抗氧化能力、热应激免疫能力要优于非选育的陆封型马苏大麻哈鱼。

3.4 选育和非选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉组织核苷、核苷酸和类似物的差异性

在本实验筛选的核苷酸类差异代谢物中,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)和烟酰胺单核苷酸(NMN)等在选育陆封型马苏大麻哈鱼中的丰度远高于非选育的陆封型马苏大麻哈鱼。NAD分为氧化型NAD⁺和还原型NADH^[38]。研究显示,活化后的AMPK通过提高细胞NAD⁺水平来上调SIRT1,进而激活其下游因子PGC-1 α ^[39, 40], PGC-1 α 一旦被激活可与多种转录因子相互作用诱导线粒体合成及调节肌纤维生长发育,提高肌肉氧化代谢能力,从而影响肌肉性能及品质^[41, 42]。在本实验中,选育组陆封型马苏大麻哈鱼肌肉*ampka1*、*sirt1*和*pgc-1 α* 表达均显著下调。亚麻籽油完全替代饲料鱼油能够明显降

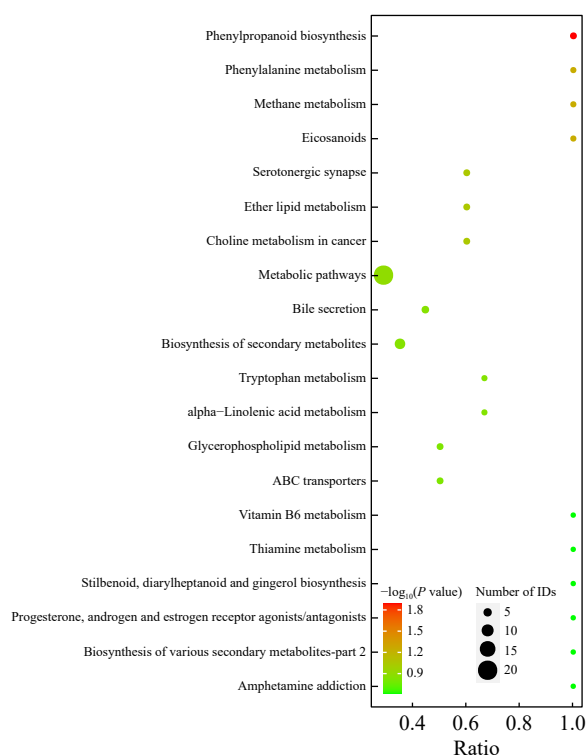


图5 选育与非选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉KEGG富集差异气泡图

Fig. 5 Differential bubble map of muscle KEGG enrichment between selected and non selected landlocked *Oncorhynchus masou*

每个点代表一个代谢通路,横坐标是富集到不同代谢通路中的Ratio值,纵坐标是富集通路;圆点表示通路上对应的代谢分子数目;颜色与P值相关,颜色越红,P值越小,颜色越绿,P值越大

Each point represents a metabolic pathway, and the abscissa is the Ratio value enriched in the different metabolic pathways, and the ordinate is the enriched pathway; The dots indicate the number of corresponding metabolic molecules on the pathway; Color is correlated with P value, with redder color, smaller P value, and greener color, larger P value

低黄姑鱼(*Nibea albiflora*) AMPK α 磷酸化水平^[43]。而在以豆油为主要脂肪源的饲料中添加DHA富含油可通过激活AMPK/SIRT1通路影响肌纤维发育, 改善团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)肌肉品质^[44]。在钠离子的帮助下, NMN的转运蛋白(Slc12a8)直接将NMN转运到细胞中, 并迅速产生NAD^[45]。NMN作为NAD⁺的前体, 它能够通过提供额外的NAD⁺来增加SIRT蛋白的活性^[46]。上述物质在烟酸和烟酰胺代谢通路中显著富集。代谢特征提示, 选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉抗病相关代谢能力及肌肉品质优于非选育的陆封型马苏大麻哈鱼。

总体来看, 脂质类、氨基酸类、有机酸类、核苷酸类等差异代谢物是造成选育和非选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉风味和品质差异的重要原因。然而, 仅使用代谢组学尚不能全面剖析它们之间的差异, 在后续的研究中可进一步采用代谢组学并结合其他组学技术, 比如转录组学、蛋白组学及脂质组学, 更深入、全面地了解选育和非选育的陆封型马苏大麻哈鱼之间的差异。

4 结论

本试验运用非靶向代谢组学技术分析了2龄选育和非选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉代谢物, 共鉴定出561个差异代谢物, 其中213个在选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉中显著上调, 348个在非选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉中显著上调。脂质类和氨基酸类差异代谢物是导致选育和非选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉风味和品质差异的重要原因, 有机酸类和核苷酸类差异代谢物说明选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉的抗氧化能力、抗应激能力、抗病相关代谢能力及免疫相关代谢能力优于非选育的陆封型马苏大麻哈鱼, 这些差异代谢物被证明能对肌肉风味和品质产生不同的影响, 最终导致选育和非选育的陆封型马苏大麻哈鱼肌肉组织间的差异。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Dong C Z, Zhao C G. Biology and reproduction of *Oncorhynchus masou* (Brevoort) [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 1996, **9**(2): 47-53. [董崇智, 赵春刚. 马苏大麻哈鱼生物学及其增殖 [J]. 水产学杂志, 1996, **9**(2): 47-53.]
- [2] Li S Z. Discussion on geographical distribution of Salmonidae in China [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 1984, **19**(1): 34-37. [李思忠. 中国鲑科鱼类地理分布的探讨 [J]. 动物学杂志, 1984, **19**(1): 34-37.]
- [3] Zheng B S, Huang H M, Zhang Y L, *et al.* Tumen River Fish Species [M]. Changchun: Jilin People's Press, 1980: 20-25. [郑葆珊, 黄浩明, 张玉玲, 等. 图们江鱼类 [M]. 长春: 吉林人民出版社, 1980: 20-25.]
- [4] Dong C Z, Zhao C G, Wang W R, *et al.* Population ecological characters cvnel resources protection of land locked *Oncorhynchus masou* (brevoort) in Suifen River [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 1997, **10**(1): 38-43. [董崇智, 赵春刚, 王维坤, 等. 绥芬河马苏大麻哈鱼陆封型种群生态学特征及资源保护 [J]. 水产学杂志, 1997, **10**(1): 38-43.]
- [5] Zhang Y L. Biological studies on landlocked masu salmon in the Tumen River [J]. *Fisheries Science*, 1988, **7**(4): 1-5. [张玉玲. 图们江马苏大麻哈鱼陆封型的生物学资料 [J]. 水产科学, 1988, **7**(4): 1-5.]
- [6] Beamish R J, Mahnken C, Neville C M. Hatchery and wild production of Pacific salmon in relation to large-scale, natural shifts in the productivity of the marine environment [J]. *ICES Journal of Marine Science*, 1997, **54**(6): 1200-1215.
- [7] Li P L, Liu W, Wang J L, *et al.* Principal component analysis of morphometric traits of Masou salmon *Oncorhynchus masou* at different month ages [J]. *Fisheries Science*, 2017, **36**(6): 707-713. [李培伦, 刘伟, 王继隆, 等. 马苏大麻哈鱼不同月龄表型性状的主成分与判别分析 [J]. 水产科学, 2017, **36**(6): 707-713.]
- [8] Wei K, Zheng W, Geng Y, *et al.* Comparative analysis of nutritional composition in muscles between wild and cultured Masu salmon *Oncorhynchus masou* [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2020, **33**(6): 1-6. [魏凯, 郑伟, 耿琰, 等. 野生与养殖马苏大麻哈鱼肌肉营养成分的比较 [J]. 水产学杂志, 2020, **33**(6): 1-6.]
- [9] Lefaucheur L. A second look into fibre typing-Relation to meat quality [J]. *Meat Science*, 2010, **84**(2): 257-270.
- [10] Larsson T, Mørkøre T, Kolstad K, *et al.* Gene expression profiling of soft and firm Atlantic salmon fillet [J]. *PLoS One*, 2012, **7**(6): e39219.
- [11] Towler M C, Hardie D G. AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling [J]. *Circulation Research*, 2007, **100**(3): 328-341.
- [12] Saccenti E, Hoefsloot H C J, Smilde A K, *et al.* Reflections on univariate and multivariate analysis of metabolomics data [J]. *Metabolomics*, 2014, **10**(3): 361-374.
- [13] Van Ba H, Ryu K S, Lan N T K, *et al.* Influence of particular breed on meat quality parameters, sensory characteristics, and volatile components [J]. *Food Science & Biotechnology*, 2013, **22**(3): 651-658.
- [14] Moradi S, Alivand M, KhajeBishak Y, *et al.* The effect of omega3 fatty acid supplementation on PPAR γ and UCP2 expressions, resting energy expenditure, and appetite in athletes [J]. *BMC Sports Science, Medicine & Rehabilitation*, 2021, **13**(1): 48.
- [15] Røsjø C, Berg T, Manum K, *et al.* Effects of temperature

- and dietary n-3 and n-6 fatty acids on endocytic processes in isolated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) hepatocytes [J]. *Fish Physiology & Biochemistry*, 1994, **13**(2): 119-132.
- [16] Kook C, Jeong K, Young K, *et al.* Characterization of *Paralichthys olivaceus* peroxisome proliferator-activated receptor- α gene as a master regulator of flounder lipid metabolism [J]. *General & Comparative Endocrinology*, 2012, **175**(1): 39-47.
- [17] la Cour Poulsen L, Siersbæk M, Mandrup S. PPARs: Fatty acid sensors controlling metabolism [J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2012, **23**(6): 631-639.
- [18] Wang Y X, Lee C H, Tiep S, *et al.* Peroxisome-proliferator-activated receptor delta activates fat metabolism to prevent obesity [J]. *Cell*, 2003, **113**(2): 159-170.
- [19] Mandard S, Müller M, Kersten S. Peroxisome proliferator-activated receptor α target genes [J]. *Cellular & Molecular Life Sciences CMLS*, 2004, **61**(4): 393-416.
- [20] Wang X, Xiao K, Jiang G Z, *et al.* Dietary 18-carbon fatty acid unsaturation improves the muscle fiber development and meat quality of *Megalobrama amblycephala* [J]. *Aquaculture Reports*, 2022(24): 101127.
- [21] Onalapo M C, Alabi O D, Akano O P, *et al.* Lecithin and cardiovascular health: a comprehensive review [J]. *The Egyptian Heart Journal*, 2024, **76**(1): 92.
- [22] Hou M D. Integrated metabolome and transcriptome revealed the meat quality difference and potential regulation mechanism in male Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*) muscle from 3—6 years of ages [D]. Chongqing: Southwest University, 2024. [侯梦丹. 整合代谢组和转录组解析3—6龄雄性中华鳖肌肉品质差异及其分子机制 [D]. 重庆: 西南大学, 2024.]
- [23] Bachmanov A A, Bosak N P, Glendinning J I, *et al.* Genetics of amino acid taste and appetite [J]. *Advances in Nutrition*, 2016, **7**(4): 806S-822S.
- [24] Sohail A, Al-Dalali S, Wang J, *et al.* Aroma compounds identified in cooked meat: A review [J]. *Food Research International*, 2022(157): 111385.
- [25] Li P, Hou D, Zhao H, *et al.* Effects of dietary arginine levels on intestinal morphology, digestive enzyme activity, antioxidant capacity and intestinal flora of hybrid snakehead (*Channa maculata* ♀ $\times$ *Channa argus* ♂) [J]. *Aquaculture Reports*, 2022(25): 101244.
- [26] Zhang W X, Jiang Q Q, Xia S L, *et al.* Research progress on the impact of amino acids on muscle quality in aquatic animals [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2024, **45**(6): 220-232. [张武肖, 江青青, 夏斯蕾, 等. 氨基酸对水产动物肌肉品质影响的研究进展 [J]. 渔业科学进展, 2024, **45**(6): 220-232.]
- [27] You S, Han X, Xu Y, *et al.* Research progress on the role of cationic amino acid transporter (CAT) family members in malignant tumors and immune microenvironment [J]. *Amino Acids*, 2023, **55**(10): 1213-1222.
- [28] Li L P. Preliminary study on living aquatic resources enhancement in China: based on the management of evaluation system [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011. [李陆嫔. 我国水生生物资源增殖放流的初步研究——基于效果评价体系的管理 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.]
- [29] Yu M M, Li W Y, Yan B L. Research progress of citric acid as feed additive in aquaculture [J]. *Journal of Aquaculture*, 2021, **42**(12): 25-29. [于淼淼, 李婉莹, 阎斌伦. 柠檬酸作为饲料添加剂在水产养殖中的应用进展 [J]. 水产养殖, 2021, **42**(12): 25-29.]
- [30] Miyake M, Kozai Y, Sakurai T, *et al.* Effects of citric acid administration on femoral trabecular structures in ovariectomized mice [J]. *Oral Radiology*, 2007, **23**(2): 34-41.
- [31] Zhang L, Zhang P, Xia C, *et al.* Effects of malic acid and citric acid on growth performance, antioxidant capacity, haematology and immune response of *Carassius auratus gibelio* [J]. *Aquaculture Research*, 2020, **51**(7): 2766-2776.
- [32] Khajepour F, Hosseini S A. Citric acid improves growth performance and phosphorus digestibility in Beluga (*Huso huso*) fed diets where soybean meal partly replaced fish meal [J]. *Animal Feed Science & Technology*, 2012, **171**(1): 68-73.
- [33] Khajepour F, Hosseini S A. Calcium and phosphorus status in juvenile Beluga (*Huso huso*) fed citric acid-supplemented diets [J]. *Aquaculture Research*, 2012, **43**(3): 407-411.
- [34] Fan Z, Li Z W, Liu Q W, *et al.* The research progress of taurine nutrition in aquatic animals [J]. *Feed Industry*, 2022, **43**(20): 47-52. [范泽, 李正伟, 刘庆武, 等. 水产动物牛磺酸营养研究进展 [J]. 饲料工业, 2022, **43**(20): 47-52.]
- [35] Wu K L, Gong Y Y, Yu K, *et al.* Research progress of taurine application in low-fishmeal aquatic feed [J]. *Feed Research*, 2024, **47**(16): 177-181. [吴坤岚, 龚洋洋, 于凯, 等. 牛磺酸在低鱼粉水产饲料中的应用研究进展 [J]. 饲料研究, 2024, **47**(16): 177-181.]
- [36] Tian Q Q, Hu Y, Mao P, *et al.* Effect of dietary taurine supplementation on growth, intestine structure and resistance to acute crowding stress in juvenile black carp (*Mylopharyngodon piceus*) fed low fish meal diets [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, **40**(9): 1330-1339. [田芊芊, 胡毅, 毛盼, 等. 低鱼粉饲料中添加牛磺酸对青鱼幼鱼生长、肠道修复及抗急性拥挤胁迫的影响 [J]. 水产学报, 2016, **40**(9): 1330-1339.]
- [37] Liu J X, Guo H Y, Zhu K C, *et al.* Effects of exogenous taurine supplementation on the growth, antioxidant capacity, intestine immunity, and resistance against *Streptococcus agalactiae* in juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*) fed with a low-fishmeal diet [J]. *Frontiers in Immunology*, 2022(13): 1036821.
- [38] Chen L, Xing X, Zhang P, *et al.* Homeostatic regulation

- of NAD (H) and NADP (H) in cells [J]. *Genes & diseases*, 2024, **11**(5): 101146.
- [39] Cantó C, Gerhart-Hines Z, Feige J N, *et al.* AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity [J]. *Nature*, 2009, **458**(7241): 1056-1060.
- [40] Cantó C, Jiang L Q, Deshmukh A S, *et al.* Interdependence of AMPK and SIRT1 for metabolic adaptation to fasting and exercise in skeletal muscle [J]. *Cell Metabolism*, 2010, **11**(3): 213-219.
- [41] Ferraro E, Giammarioli A M, Chiandotto S, *et al.* Exercise-induced skeletal muscle remodeling and metabolic adaptation: redox signaling and role of autophagy [J]. *Antioxidants and Redox Signaling*, 2014, **21**(1): 154-176.
- [42] Ruas J L, White J P, Rao R R, *et al.* A PGC-1 α isoform induced by resistance training regulates skeletal muscle hypertrophy [J]. *Cell*, 2012, **151**(6): 1319-1331.
- [43] Qin G, Xu D, Lou B, *et al.* iTRAQ-based quantitative phosphoproteomics provides insights into the metabolic and physiological responses of a carnivorous marine fish (*Nibea albiflora*) fed a linseed oil-rich diet [J]. *Journal of Proteomics*, 2020(228): 103917.
- [44] Wang C C, Liu W B, Huang Y Y, *et al.* Dietary DHA affects muscle fiber development by activating AMPK/Sirt1 pathway in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. *Aquaculture*, 2020(518): 734835.
- [45] Chen T, Cao H, Dong L, *et al.* Advance in understanding the effect of β -nicotinamide mononucleotide on physiological functions [J]. *Food Science*, 2023, **44**(9): 382-391. [陈韬, 曹卉, 董丽, 等. β -烟酰胺单核苷酸对生理机能影响的研究进展 [J]. *食品科学*, 2023, **44**(9): 382-391.]
- [46] Bonkowski M S, Sinclair D A. Slowing ageing by design: The rise of NAD⁺ and sirtuin-activating compounds [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2016, **17**(11): 679-690.

DIFFERENCES IN MUSCLE METABOLITE BETWEEN SELECTED F₅ GENERATION AND NON SELECTED *ONCORHYNCHUS MASOU* BASED ON METABOLOMIC ANALYSIS

JIN Xiao-Yan¹, HAN Ming-Ming², LIU Hui-Ji², QU Gui-Juan¹, NIU Xiao-Tian¹, HAO Yong-Kun¹,
CHEN Xiu-Mei¹ and WANG Gui-Qin¹

(1. Joint International Research Laboratory of Modern Agricultural Technology, Ministry of Education/Key Lab of Animal Production, Product Quality and Security, Ministry of Education, College of Animal Science and Technology, Jilin Agriculture University, Jilin 130118, China; 2. Jilin Provincial Academy of Fishery Sciences, Jilin 130033, China)

Abstract: The effect of breeding on muscle metabolites of landlocked *Oncorhynchus masou* was explored by untargeted metabolomics technology, which provided a theoretical basis for breeding efforts. Muscle tissues were collected from 10 non selected landlocked *O. masou* and 10 fifth generation (F₅) selected individuals, with untargeted metabolomics studies using liquid-mass coupling (LC-MS) technology. Metabolite differences between F₅ selected and non-selected groups were compared, with differential metabolites identified using thresholds of $P < 0.05$, VIP value > 1.0 , and $FC \geq 1.5$ (up-regulated) or $FC \leq 0.667$ (down-regulated). Pathway annotation of the metabolites through KEGG database, phenylpropane biosynthesis and metabolic, fat metabolism, and eicosanoids metabolism pathway were analyzed. Significant differences in muscle metabolites were observed between F₅ selected and non-selected groups: compared with the non-selected group, 213 differential metabolites were significantly up-regulated and 348 were significantly down-regulated, mainly annotated to secondary metabolites biosynthesis, bile secretion, and metabolism pathway. KEGG bubble chart analysis showed that phenylpropane biosynthesis, phenylalanine metabolism, and methane metabolism pathway had important effects on muscle growth during selection. Breeding exerted a significant effect on muscle metabolites in landlocked *O. masou*. Metabolomics analysis showed that post-selection, improvements in muscle nutritional quality relative to the non-selected group may be linked to metabolites changes such as DHA, EPA, AMPK, and PPAR α in the phenylpropane biosynthesis and metabolism, fat metabolism, and arachidonic acid metabolism pathway.

Key words: Landlocked population; Selected population; Untargeted metabolomics; Muscle; *Oncorhynchus masou*