

doi: 10.16104/j.issn.1673-1891.2025.03.001

凉山黑绵羊繁殖相关候选主效基因的筛选

王娟红¹, 范宇州¹, 邱凤娇¹, 刘山川¹, 倪国超¹, 郝桂英^{1,2*}, 常卫华^{1,3}

(1. 西昌学院动物科学学院, 四川 西昌 615013; 2. 攀西动物疫病检测与防控实验室, 四川 西昌 615013;
3. 四川地方特色山羊重点实验室, 四川 西昌 615013)

摘要: [目的] 凉山黑绵羊适应性强, 但繁殖效率低, 开发利用程度不高, 亟待揭示其繁殖调控机制, 提高育种水平。[方法] 以凉山黑绵羊为实验动物, 利用转录组学技术对双胎和单胎凉山黑绵羊进行高通量测序, 并进行基因差异、GO、KEGG 等生物信息学分析。[结果] 完成 6 个样品的转录组(RNA-seq)分析, 共获得 42.73 Gb Clean Reads, 各样品 Clean Reads 均达到 6.14 Gb, Q30 碱基百分比在 94.50% 以上; 将各样品 Clean Reads 与基因组进行序列比对, 比对效率从 85.43% 到 95.66%; 获得差异基因 275 个, 其中上调基因 81 个, 下调基因 194 个; COG、GO 和 KEGG 通路分析筛选到 *MAB21L2*、*ZBTB32*、*ABHD2*、*TGFB2*、*PDE3A*、*LHCGR*、*WNT4*、*KMT2B*、*KISS1*、*PLEKHA1*、*INHBB*、*REC8*、*ATM*、*LOC114118362*、*BRCA2* 共 15 个凉山黑绵羊繁殖候选相关基因, 其中上调基因 2 个, 下调基因 3 个, 差异不具有统计学意义($P>0.05$), 但表达丰度处于高水平的基因 10 个, 基因 *WNT4*、*KISS1*、*PLEKHA1*、*ATM*、*LOC114118362* 富集繁殖 GO 条目最多。[结论] 为繁殖性状相关候选基因验证和多胎凉山黑绵羊品种培育奠定了基础, 对凉山黑绵羊繁殖效率的提升具有借鉴意义。

关键词: 凉山黑绵羊; 转录组; 主效基因; 高效快繁

中图分类号: S826.3 文献标志码: A 文章编号: 1673-1891(2025)03-0001-11

Screening of Candidate Major Effect Genes Associated with Reproduction in Liangshan Black Sheep

WANG Juanhong¹, FAN Yuzhou¹, QIU Fengjiao¹, LIU Shanchuan¹, NI Guochao¹,
HAO Guiying^{1,2*}, CHANG Weihua^{1,3}

(1. College of Animal Science, Xichang University, Xichang 615013, Sichuan, China;
2. Laboratory for Testing and Prevention of Animal Diseases in Panxi Region, Xichang 615013, Sichuan, China;
3. Laboratory of Local Goat in Sichuan, Xichang 615013, Sichuan, China)

Abstract: [Objective] The Liangshan Black Sheep exhibits strong environmental adaptability but suffers from low reproductive efficiency and underutilization in breeding programs. A comprehensive understanding of its reproductive regulatory mechanisms is urgently needed to improve breeding outcomes. [Method] In this study, Liangshan Black Sheep were used as experimental animals. Transcriptomic techniques were employed to perform high-throughput sequencing on both

收稿日期: 2025-03-17

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(32360905); 中国农业大学对口支援西昌学院联合基金项目(ZXL202403); 畜禽生物育种全国重点实验室开放课题(2025SKLAB6-01); 西昌学院 2025 年省级国家级大学生创新创业训练计划项目(西学院([2025]36号)。

第一作者简介: 王娟红(1986—), 女, 甘肃定西人, 讲师, 硕士, 主要研究方向为思政教育与生物学。E-mail: wangjuanhonglove@163.com。

*通信作者简介: 郝桂英(1980—), 女, 四川荣县人, 教授, 博士, 主要研究方向为动物寄生虫病。E-mail: haoguiying@163.com。

twin and single-born Liangshan Black Sheep, followed by comprehensive bioinformatics analyses including differential gene expression, Gene Ontology (GO) and KEGG pathway enrichment analyses. [Result] Six biological replicates were sequenced, generating a total of 42.73 Gb of clean reads, with each sample yielding ≥ 6.14 Gb of high-quality sequences (Q30>94.50%). Reference genome alignment achieved mapping efficiencies of 85.43%~95.66%. 275 significantly differentially expressed genes (DEGs) were identified, including 81 up-regulated and 194 down-regulated genes. Through integrated COG, GO, and KEGG pathway analyses, 15 candidate genes associated with reproductive traits were identified: *MAB21L2*, *ZBTB32*, *ABHD2*, *TGFB2*, *PDE3A*, *LHCGR*, *WNT4*, *KMT2B*, *KISS1*, *PLEKHA1*, *INHBB*, *REC8*, *ATM*, *LOC114118362* and *BRCA2*. Among these, two genes showed significant up-regulation, three were down-regulated, and ten exhibited high expression abundance despite not reaching statistical significance in differential expression ($P>0.05$). Notably, *WNT4*, *KISS1*, *PLEKHA1*, *ATM*, and *LOC114118362* were most significantly enriched in reproduction-related GO terms. [Conclusion] This study provides valuable molecular insights for validating reproductive trait-associated genes and facilitates the development of breeding strategies to improve lambing rates in Liangshan Black Sheep. The findings establish an important foundation for enhancing the reproductive efficiency of this indigenous breed through targeted genetic selection.

Keywords: Liangshan Black Sheep; transcriptome; major effect genes; high-efficiency rapid reproduction

0 引言

凉山黑绵羊又称黑色精灵,具有遗传性能稳定、耐粗饲、适应性和抗病力强等优点,2021年11月23日被农业农村部列为全国“畜禽十大优异种质资源”之一。目前,四川省凉山彝族自治州(以下简称凉山州)黑绵羊的群体数量达29.1万头,主要分布于凉山州内海拔2500~3300m的中山地带。凉山黑绵羊经不断驯化、选择、选育,逐渐形成了在当地适应性极强、数量多的黑绵羊群体,但目前有关凉山黑绵羊高效快繁及生殖生理调控领域的研究不足^[1]。王俊科等^[2]研究证实,凉山黑绵羊存在*BMPR-IB*基因,有BB型、B+型和++型3种基因型,而且*BMPR-IB*基因的突变对促卵泡素(follicle stimulating hormone, FSH)、促黄体素(luteinizing hormone, LH)和孕酮(progesterone, P₄)的分泌有促进作用。高文燕等^[1]发现,凉山黑绵羊生理生化指标与低海拔地区绵羊有一定差异,该差异可能与高寒低氧适应性有关。

转录组学(transcriptomics)是一门在整体水平上研究细胞中基因转录情况及转录调控规律的学科,主要研究特定细胞在某一功能状态下所能转录出来的所有RNA(包括mRNA、rRNA、tRNA和其他

非编码RNA)的类型、结构和功能。转录组学在多个领域都有广泛的应用,包括疾病标志物发现、药物研发与应用、基因治疗、生长发育与进化、环境监测与生物防治等。目前,转录组学已经从最初的基于微阵列的技术发展到现在的基于下一代测序(next generation sequencing, NGS)的技术,这种新的测序技术能够提供全面的转录本序列和表达信息,从而提供更精确的基因表达模式,在动物主效基因的筛选及新品种快速选育上具有十分重要的应用价值^[3-5]。柏丽等^[6]通过转录组学技术探究了不同品种绵羊肌肉组织中circRNA的表达谱差异,初步筛选到90个circRNA可以作为影响绵羊肉质的候选调控因子,这些circRNA可能在绵羊脂肪沉积、肌肉生长发育的过程中发挥重要作用。陈雪燕等^[7]研究揭示了不同产羔类型皮山红羊血液中的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),筛选到影响皮山红羊胚胎发育的ECM-受体相互作用、黏着斑、细胞黏附分子等重要通路,鉴别出*CCL14*、*PRLH*、*PTGIS*、*COL3A1*、*COL1A1*、*ERBB2*等关键候选基因,可为皮山红羊选种选育提供理论依据。

凉山黑绵羊适应性强,但以单羔为主,繁殖效率低,开发利用程度不高,有关凉山黑绵羊繁殖主效基因的研究尚未见报道。本试验通过转录组学

技术就凉山黑绵羊多胎性进行研究,挖掘其繁殖相关优势主效基因,研究其调控机制,为凉山黑绵羊高效快繁奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验动物及样品采集

试验以四川省凉山州布拖县黑绵羊养殖基地的凉山黑绵羊为研究对象,饲喂方式以人工放牧加补饲为主。通过蹲点观察、询问、走访等方式筛选健康2~3产的多胎和单胎凉山黑绵羊各3只,通过颈静脉采集全血样品,液氮快速冷冻,其中多胎凉山黑绵羊用LSHP表示,单胎凉山黑绵羊用LSHSB表示。

1.2 主要试剂

全血总RNA提取试剂盒(杭州新景生物试剂开发有限公司产品);RNA反转录试剂盒(山东思科捷生物技术有限公司产品);HyperScript™ III RT SuperMix for qPCR with Gdna Remover、2×S6 Universal SYBR qPCR Mix(翌圣生物科技(上海)股份有限公司产品);RNA反转录试剂盒(山东思科捷生物技术有限公司产品);其他常规试剂均为北京全式金生物技术有限公司产品。

1.3 RNA提取和质量鉴定

按照全血总RNA提取试剂盒说明书进行血液RNA的提取,用NanoDrop 2000(Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE)测量RNA质量浓度和纯度。

1.4 转录组测序文库制备

样品检测合格后,用带有Oligo(dT)的磁珠富集真核生物mRNA,加入Fragmentation Buffer将mRNA进行随机打断;以mRNA为模板,合成第一条cDNA链及二链,并进行cDNA纯化;纯化的双链cDNA再进行末端修复、加A尾并连接测序接头,然后用AMPure XP beads进行片段大小选择;最后通过PCR富集得到cDNA文库。文库构建完成后,先使用Qubit 3.0荧光定量仪进行初步定量,质量浓度需达到1

ng/ μ L以上,随后在Illumina NovaSeq平台上对文库进行测序,生成150 bp的双末端序列。对数据进行严格的质量控制:(1)去除含有接头的Reads;(2)去除低质量的Reads(包括去除N的比例大于10%的Reads;去除质量值 $Q \leq 10$ 的碱基数占整条Read的50%以上的Reads),经过质量控制之后得到的高质量Clean Data。

1.5 生物信息学分析

用百迈客云平台BMKCloud(<https://www.biocloud.net>)提供的生物信息学分析流程对测序数据进行分析。过滤得到的Clean Data,与指定的参考基因组(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_002742125.1/)进行序列比对,得到Mapped Data后,进行文库质量评估、结构水平分析、差异表达分析、基因功能注释和功能富集等分析。

2 结果与分析

2.1 测序结果

试验完成6个样品有参转录组分析,共获得42.73 Gb Clean Reads,如表1所示。各样品Clean Reads均达到6.14 Gb, Q30碱基百分比在94.50%以上,各样品Clean Reads与参考基因组进行序列比对,比对效率从85.43%到95.66%;比对到基因组唯一位置的Reads数目在Clean Reads中占比为70.42%~89.80%,比对到基因组多处位置的Reads数目在Clean Reads中占比为5.86%~18.81%。

2.2 基因差异表达分析

基于基因在各个样本中的Count值,使用DESeq2差异分析软件进行差异表达基因筛选,将Fold Change ≥ 2 且FDR < 0.01 作为筛选标准。根据差异表达基因集基因数目统计,该试验鉴定差异基因275个,其中上调基因81个,下调基因194个,如图1所示。

2.3 差异基因COG分类

直系同源基因簇(cluster of orthologous groups,

表 1 样品测序数据及序列比对结果

样品 编号	总的 非冗余 片段数	GC/%	N/%	Q20/%	Q30/%	Mapped Reads (占比/%)	Uniq Mapped Reads (占比/%)	Multiple Map Reads (占比/%)	Reads Map to ‘+’ (占比/%)	Reads Map to ‘-’ (占比/%)
LSHP1	48 945 064	51.66	0.01	98.02	94.54	46 145 017 (94.28)	43 271 185 (88.41)	2 873 832 (5.87)	25 482 688 (52.06)	25 389 197 (51.87)
LSHP2	54 630 782	51.08	0.01	98.31	95.28	52 259 864 (95.66)	49 059 725 (89.80)	3 200 139 (5.86)	28 869 612 (52.84)	28 827 906 (52.77)
LSHP3	47 712 586	51.33	0.01	97.99	94.52	45 422 383 (95.20)	42 564 619 (89.21)	2 857 764 (5.99)	25 090 210 (52.59)	25 060 839 (52.52)
LSHSB1	45 477 616	51.61	0.01	98.24	95.29	42 198 797 (92.79)	39 017 516 (85.79)	3 181 281 (7.00)	24 168 906 (53.14)	23 787 289 (52.31)
LSHSB2	41 003 056	53.93	0.02	98.29	95.36	36 587 859 (89.23)	28 876 195 (70.42)	7 711 664 (18.81)	27 173 858 (66.27)	25 679 476 (62.63)
LSHSB3	47 661 224	52.91	0.01	98.16	95.05	40 719 344 (85.43)	34 780 109 (72.97)	5 939 235 (12.46)	27 438 740 (57.57)	25 440 623 (53.38)

注:GC%表示 Clean Data 中的 GC 成分分数,即 Clean Data 中 G 和 C 这 2 种碱基占总碱基的百分比;N%表示 Clean Data 中含 N 的碱基占总碱基的百分比;Q20%表示 Clean Data 质量值大于或等于 20 的碱基所占的百分比;Q30%表示 Clean Data 质量值大于或等于 30 的碱基所占的百分比;Mapped Reads 表示比对到绵羊基因组上的 Reads 数目及在 Clean Reads 中占的百分比;Uniq Mapped Reads 表示比对到绵羊基因组唯一位置的 Reads 数目(该列括号内的数字表示在 Clean Reads 中占的百分比);Multiple Map Reads 表示比对到绵羊基因组多处位置的 Reads 数目(该列括号内的数字表示在 Clean Reads 中占的百分比);Reads Map to “+”表示比对到绵羊基因组正链的 Reads 数目(该列括号内的数字表示在 Clean Reads 中占的百分比);Reads Map to “-”表示比对到绵羊基因组负链的 Reads 数目(该列括号内的数字表示在 Clean Reads 中占的百分比)。

COG)数据库对基因产物进行直系同源分类,结果显示本研究中 4 481 条基因注释到 COG,分类注释数量前 5 名的分别为氨甲酰磷酸合成酶小亚基(carbamoylphosphate synthase small subunit)、甲硫氨酸合成酶 I 型(methionine synthase I)、N-甲基乙内酰胺酶 B/氧脯氨酸酶/丙酮酸羧化酶(N-methylhydantoinaseB/oxoprolinase/acetone carboxylase)、磷酸核糖甲酰甘氨酸合成酶(phosphoribosyl-formylglycinamide synthase)、丙酮酸羧化酶(pyruvate carboxylase),如图 2 所示。

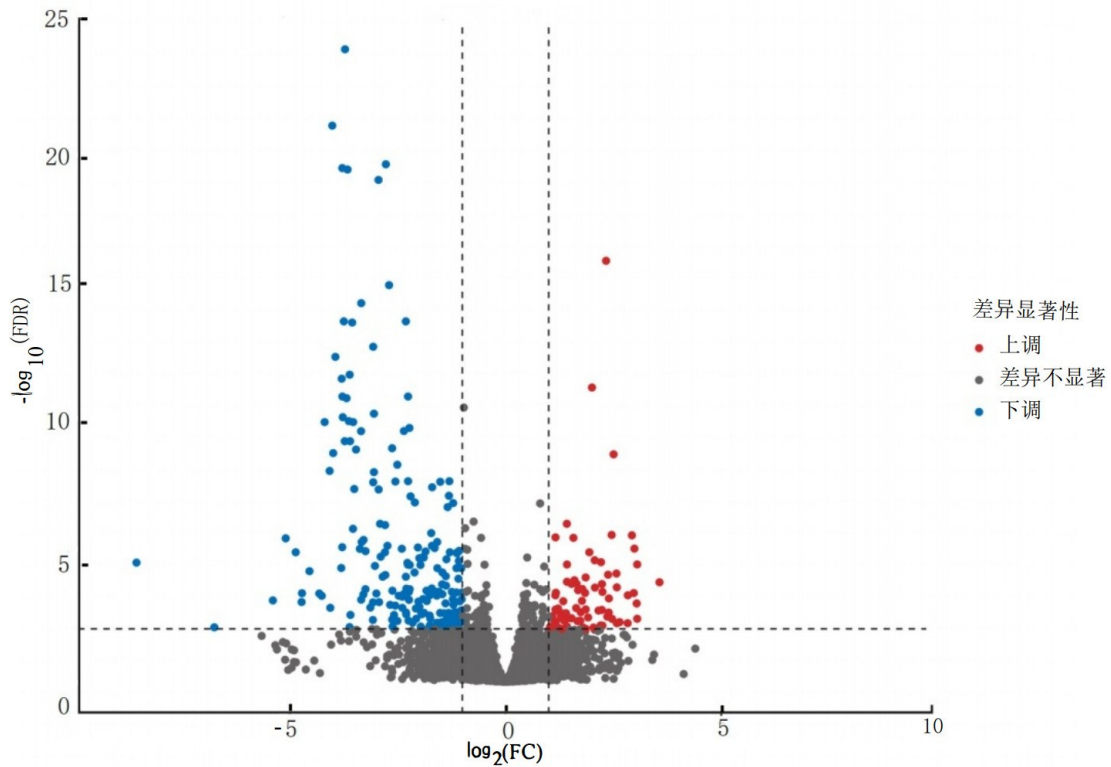
2.4 GO 分类富集分析

用 ClusterProfiler 采用超几何检验方法进行富集分析。结果显示,本试验生物学过程富集到 945 个条目、分子功能富集到 240 个条目、细胞组分富集到 202 个条目,其中与繁殖功能相关的条目有卵泡发育(ovarian follicle development, GO:0001541)、生殖(reproduction,

GO:0000003)、激素活性(hormone activity, GO:0005179)、神经肽激素活性(neuropeptide hormone activity, GO:0005184)、卵母细胞成熟(oocyte maturation, GO:0001556)、类固醇激素受体活性(steroid hormone receptor activity, GO:0003707)、窦前卵泡生长(preantral ovarian follicle growth, GO:0001546)、鞭毛精子运动(flagellated sperm motility, GO:0030317)、单次受精(single fertilization, GO:0007338)等条目,如图 3 所示。

2.5 KEGG 分类注释

KEGG 分析显示试验差异基因注释到 242 条通路,KEGG 分类注释数量前 5 的通路分别为亨廷顿病(huntington disease, ko05016)、肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ko05014)、阿尔茨海默病(alzheimer disease, ko05010)、蛋白聚糖在癌症中的作用(proteoglycans in cancer, ko05205)、癌症相关



注: $\log_2(\text{FC})$ 表示基因表达量的对数倍数变化, $-\log_{10}(\text{FDR})$ 表示错误发现率的负对数; 蓝色点表示下调差异表达基因, 红色的点表示上调差异表达基因, 黑色的点代表非差异表达基因。

图 1 差异基因火山

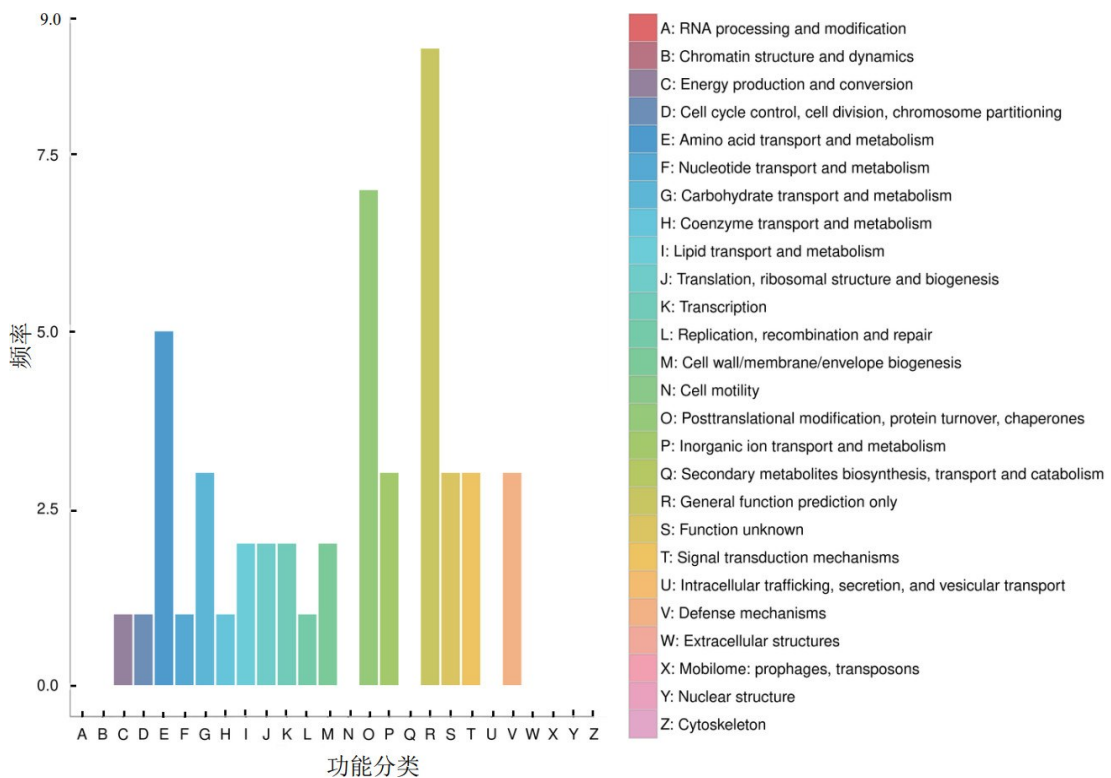


图 2 差异表达基因 COG 注释分类

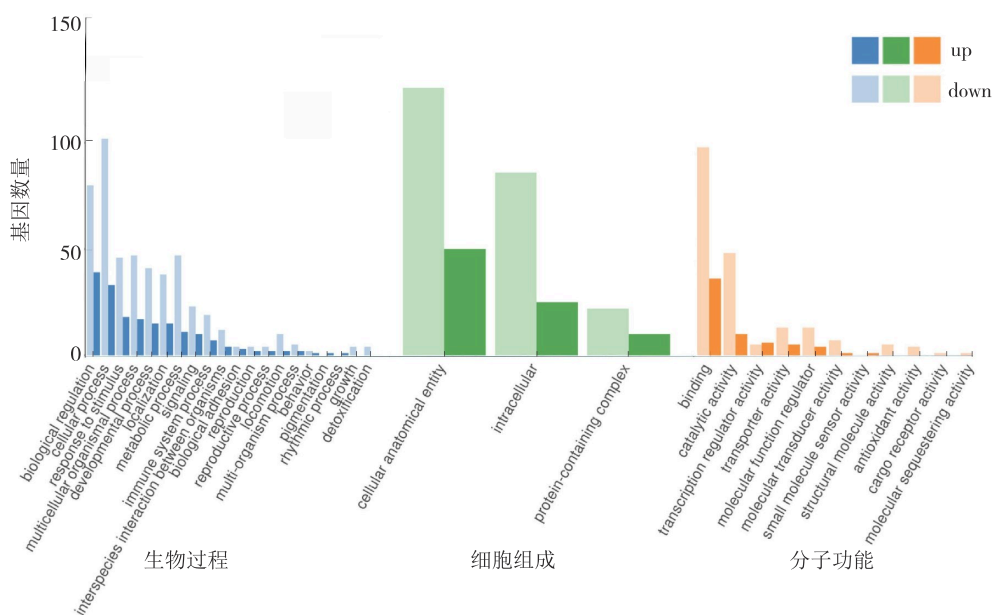
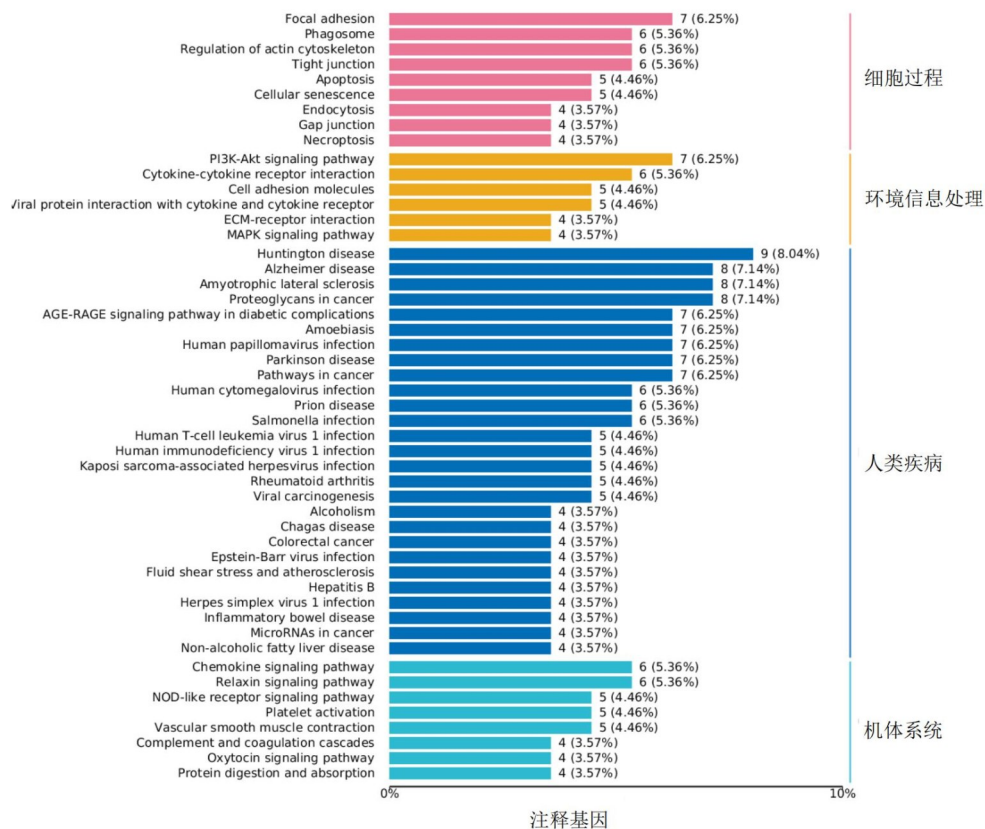


图3 差异表达基因 GO 注释分类统计

信号通路 (pathways in cancer, ko05200), 如图 4 所示。



注:左侧纵坐标为 KEGG 代谢通路名称,右侧纵坐标代表注释的通路对应的一级分类名称,横坐标为注释到该通路下的基因个数及其个数占被注释上的基因总数的比例。

图4 差异表达基因 KEGG 分类

2.6 繁殖相关候选主效基因筛选

通过差异表达、COG、GO及KEGG通路等分析,共获得凉山黑绵羊与卵泡发育、排卵、胚胎着床、胚胎发育、性别分化、性腺发育、发情周期调控、性腺激素调控、组织器官发育等繁殖相关主效基因15

个,含上调基因2个,下调基因3个,差异无统计学意义($P>0.05$)、但表达丰度处于高水平的基因10个,其中基因 *WNT4*、*KISS1*、*PLEKHA1*、*ATM*、*LOC114118362* 富集繁殖GO条目最多,COG分类以通用功能预测为主,如表2所示。

表2 繁殖相关候选主效基因

基因名称	上调/下调	GO 注释	KEGG 注释/通路注释	COG 分类
<i>MAB21L2</i>	上调	embryonic body morphogenesis(GO:0010172), nucleus (GO:0005634), cytoplasm(GO:0005737), positive regulation of cell population proliferation(GO:0008284)	putative nucleotidyltransferase(K23092)	#
<i>ZBTB32</i>	上调	immune system development(GO:0002520), multicellular organism development(GO:0007275), developmental process (GO:0032502), animal organ development(GO:0048513), hematopoietic or lymphoid organ development(GO:0048534), system development (GO:0048731), anatomical structure development(GO:0048856)	zinc finger and BTB domain-containing protein 32(K10506)	#
<i>ABHD2</i>	下调	steroid hormone receptor activity(GO:0003707), response to progesterone(GO:0032570), sperm flagellum (GO:0036126);hormone binding(GO:0042562), sperm capacitation(GO:0048240), sperm plasma membrane (GO:0097524)	abhydrolase domain-containing protein 2 (K13697)	General function prediction only
<i>TGFB2</i>	下调	embryonic digestive tract development(GO:0048566), response to progesterone(GO:0032570), eye development (GO:0001654), hair follicle development(GO:0001942), salivary gland morphogenesis(GO:0007435), positive regulation of Notch signaling pathway(GO:0045747)	MAPK signaling pathway (ko04010), Cytokine-cytokine receptor interaction(ko04060), Cell cycle (ko04110), Hippo signaling pathway(ko04390)	#
<i>PDE3A</i>	下调	oocyte maturation(GO:0001556), positive regulation of oocyte development(GO:0060282), regulation of meiotic nuclear division(GO:0040020), cAMP-mediated signaling (GO:0019933), cGMP-mediated signaling(GO:0019934)	Purine metabolism (ko00230), cGMP-PKG signaling pathway (ko04022), cAMP signaling pathway(ko04024), Renin secretion (ko04924), Morphine addiction(ko05032)	#
<i>LHCGR</i>	---	ovarian follicle development(GO:0001541), luteinizing hormone receptor activity(GO:0004964), uterus development (GO:0060065), spermatogenesis(GO:0007283), ovulation cycle process(GO:0022602), choriogonadotropin hormone binding(GO:0038106), regulation of steroid hormone biosynthetic process(GO:0090030)	Ovarian steroidogenesis (ko04913), Calcium signaling pathway (ko04020), cAMP signaling pathway(ko04024), Prolactin signaling pathway(ko04917)	#

续表

基因名称	上调/下调	GO 注释	KEGG 注释/通路注释	COG 分类
<i>WNT4</i>	---	oocyte development(GO:0048599), embryonic epithelial tube formation(GO:0001838), female gonad development(GO:0008585), female sex determination(GO:0030237), hormone metabolic process(GO:0042445), negative regulation of testicular blood vessel morphogenesis(GO:0061369), negative regulation of male gonad development(GO:2000019), negative regulation of androgen biosynthetic process(GO:2000180), negative regulation of testosterone biosynthetic process(GO:2000225)	mTOR signaling pathway (ko04150), Wnt signaling pathway(ko04310), Axon guidance(ko04360), Hippo signaling pathway (ko04390), Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells (ko04550), Thyroid hormone signaling pathway (ko04919)	#
<i>KMT2B</i>	---	ovarian follicle development(GO:0001541), oocyte differentiation(GO:0009994), gene silencing(GO:0016458), ovulation (GO:0030728), histone H3-K4 methylation(GO:0051568)	Lysine degradation (ko00310)	General function prediction only
<i>KISS1</i>	---	reproduction(GO:0000003), reproductive process(GO:0022414), ovulation cycle process(GO:0022602), regulation of gonadotropin secretion(GO:0032276), regulation of luteinizing hormone secretion(GO:0033684), positive regulation of luteinizing hormone secretion(GO:0033686), ovulation cycle(GO:0042698), regulation of hormone secretion(GO:0046883), generation of ovulation cycle rhythm(GO:0060112), regulation of growth hormone secretion(GO:0060123)	GnRH secretion (ko04929), Neuroactive ligand-receptor interaction(ko04080)	#
<i>PLEKHAI</i>	---	reproduction (GO:0000003), luteinization (GO:0001553), gamete generation(GO:0007276), spermatogenesis(GO:0007283), sex differentiation(GO:0007548), androgen metabolic process(GO:0008209), estrogen metabolic process(GO:0008210), male gonad development(GO:0008584), female gonad development(GO:0008585), post-embryonic development(GO:0009791), regulation of hormone levels(GO:0010817), sexual reproduction(GO:0019953), reproductive process(GO:0022414), ovulation cycle process(GO:0022602), ovulation cycle(GO:0042698), female sex differentiation(GO:0046660), male sex differentiation(GO:0046661), male gamete generation(GO:0048232), reproductive system development(GO:0061458)	MAPK signaling pathway (ko04010)	#

续表

基因名称	上调/下调	GO 注释	KEGG 注释/通路注释	COG 分类
<i>INHBB</i>	---	oocyte development(GO:0048599), hormone activity(GO:0005179), cellular response to insulin stimulus(GO:0032869), activin receptor signaling pathway(GO:0032924), negative regulation of follicle-stimulating hormone secretion(GO:0046882), positive regulation of ovulation (GO:0060279)	Cytokine-cytokine receptor interaction(ko04060), TGF-beta signaling pathway(ko04350), Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells (ko04550)	#
<i>REC8</i>	---	oocyte maturation(GO:0001556), fertilization(GO:0009566), male germ cell nucleus(GO:0001673), sister chromatid cohesion(GO:0007062), male meiosis I(GO:0007141), spermatid development(GO:0007286), nuclear meiotic cohesin complex(GO:0034991)	Oocyte meiosis (ko04114)	#
<i>ATM</i>	---	ovarian follicle development(GO:0001541), oocyte development(GO:0048599), post-embryonic development (GO:0009791), male meiotic nuclear division(GO:0007140), female meiotic nuclear division(GO:0007143), brain development(GO:0007420), heart development(GO:0007507), meiotic telomere clustering (GO:0045141)	Homologous recombination(ko03440), NF-kappa B signaling pathway(ko04064), FoxO signaling pathway (ko04068), p53 signaling pathway(ko04115), Apoptosis (ko04210)	#
<i>LOC114118362</i>	---	ovarian follicle development(GO:0001541), oocyte development(GO:0048599), post-embryonic development (GO:0009791), male meiotic nuclear division(GO:0007140), female meiotic nuclear division(GO:0007143), brain development(GO:0007420), heart development(GO:0007507), meiotic telomere clustering (GO:0045141)	Homologous recombination(ko03440), FoxO signaling pathway (ko04068), Cell cycle (ko04110), p53 signaling pathway(ko04115), Apoptosis(ko04210)	#
<i>BRCA2</i>	---	oocyte maturation(GO:0001556), female gonad development(GO:0008585), male meiosis I(GO:0007141), spermatogenesis(GO:0007283), brain development(GO:0007420)	Homologous recombination(ko03440), Fanconi anemia pathway (ko03460), Pathways in cancer(ko05200)	#

注:---代表差异无统计学意义,#代表未注释到COG分类。

3 讨论

凉山黑绵羊被誉为“黑色精灵”,是全国“畜禽十大优异种质资源”之一,2024年入选中国品牌价值500强,成为国家地理标志农产品品牌的重要组

成部分。凉山黑绵羊具有遗传性能稳定、肉质细嫩、膻味小、耐粗饲、适应性强等特点,是当地重要的畜种资源。然而,凉山黑绵羊的繁殖效率较低,开发利用程度不高,限制了其进一步推广和应用。动物生殖生理是一个复杂的生物学过程,涵盖生殖

细胞的生成、分化、迁移及生殖器官的生长发育等多个环节^[8]。深入研究动物生殖生理,尤其是挖掘和解析繁殖主效基因,可以揭示动物繁殖行为的生物学机制,为提升繁殖性能、诊断和治疗繁殖相关疾病提供重要的科学依据。繁殖主效基因的发现和功能解析不仅有助于揭示凉山黑绵羊繁殖效率低下的分子机制,还能为培育高繁殖率的新品系提供关键的遗传靶点^[9-10]。

转录组学技术是鉴定主效候选基因极其重要的一种途径。孟晨等^[11]采集 12 匹泌乳高峰期哈萨克马血样进行转录组测序和分析,共筛选出 *KCNN4*、*CAMK2B*、*CACNA1D*、*CACNA1E*、*GRIA4* 等与泌乳高峰期哈萨克马泌乳量相关的基因,为选育乳用型哈萨克马提供数据支撑。蒋婷等^[12]通过转录组测序和蛋白组测序筛选了蛋鸡就巢性关键候选基因,为深入解析就巢期卵巢萎缩的分子调控机制提供了理论参考。尤科梅等^[13]通过 RNA-Seq 技术获得了与滩羊肌肉生长发育相关的 *KSR2*、*ENAH*、*COL9A1*、*IFIT1*、*B3GAT2* 和 *TACR1* 等候选基因,初步揭示了滩羊背最长肌差异形成的分子机理。本研究以凉山黑绵羊为对象,通过转录组学技术对双胞胎和单胎凉山黑绵羊进行高通量测序和分析,共获得 15 个与凉山黑绵羊繁殖相关主效基因,为凉山黑绵

羊的新品种培育等提供了参考。

本研究鉴定出的多个凉山黑绵羊繁殖相关主效基因,包括 *ABHD2*、*LHCGR*、*KISS1*、*INHBB*、*REC8* 等,与张霞等^[14]、江峰等^[15]、荣轩等^[16]、Eijpe 等^[17]、Ishiguro 等^[18]的研究结果一致,显示其均对动物繁殖功能具有一定的调控作用。本试验还筛选到一些凉山黑绵羊繁殖候选主效基因 *MAB21L2*、*ZBTB32*、*TGFB2*、*PDE3A*、*WNT4*、*KMT2B*、*PLEKHA1*、*ATM*、*LOC114118362*、*BRCA2* 等,未见相关报道,未来尚需加强对这些基因的研究,明确其具体调控作用及调控机制,确定这些基因在凉山黑绵羊繁殖中的作用,为凉山黑绵羊新品种快速选育奠定理论基础。

4 结论

本研究通过对多胎和单胎凉山黑绵羊血液样本进行高通量测序和分析,共获得 15 个与凉山黑绵羊繁殖相关的候选主效基因,其中上调基因 2 个,下调基因 3 个,差异无统计学意义,其中表达丰度处高水平基因 10 个,且 *WNT4*、*KISS1*、*PLEKHA1*、*ATM*、*LOC114118362* 基因富集繁殖 GO 条目最多。后期将对该候选基因进一步深入验证分析,为多胎凉山黑绵羊品种的培育奠定基础。

参考文献:

- [1] 高文燕,龙贞羽,张桥桥,等.凉山黑绵羊主要生理生化指标的测定与分析[J].饲料工业,2024(19):73-77.
- [2] 王俊科,王娟红,常卫华,等.*BMPR-IB* 不同基因型对凉山黑绵羊不同生理时期主要生殖激素的影响[J].中国草食动物科学,2023(2):77-80.
- [3] 常卫华,杨富贵,张桥桥,等.绵羊妊娠早期 lncRNA 生物标志物的筛选与鉴定[J].畜牧与兽医,2024(11):1-9.
- [4] WANG C W, CHEN L Q, MA S J, et al. Biological effects of baicalin on the ovine mammary cells and regulatory mechanism study by transcriptomic analysis[J]. Genomics, 2025, 117(2): 111012.
- [5] SONG Y K, HAI E H, ZHANG N, et al. Oocyte transcriptomes and follicular fluid proteomics of ovine atretic follicles reveal the underlying mechanisms of oocyte degeneration[J]. BMC Genomics, 2025, 26(1): 97.
- [6] 柏丽,孟科,冯登侦.不同品种绵羊肉质相关环状 RNAs 的筛选及功能预测分析[J].中国畜牧杂志,2025,61(3):154-162+219.
- [7] 陈雪艳,木合塔帕·买买提江,李政,等.基于血液转录组探究皮山红羊繁殖性状候选基因的差异表达[J].中国畜牧杂志,

- 2024(11):185-193.
- [8] 王娟红,常卫华.miR-214在动物生殖生理调控中的功能和机制[J].中国兽医杂志,2024(12):111-117.
- [9] BAO J J, XIONG J K, HUANG J P, et al. Genetic diversity, selection signatures, and genome-wide association study identify candidate genes related to litter size in Hu Sheep[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(17): 9397.
- [10] HERNÁNDEZ-MONTIEL W, MARTÍNEZ-NÚÑEZ M A, RAMÓN-UGALDE J P, et al. Genome-wide association study reveals candidate genes for litter size traits in pelibuey sheep[J]. Animals, 2020, 10(3): 434.
- [11] 孟晨,曾亚琦,王建文,等.基于转录组学筛选哈萨克马泌乳量相关基因[J].中国畜牧兽医,2024(12):5392-5404.
- [12] 蒋婷,李文东,李兴起,等.转录组和蛋白组筛选就巢鸡卵巢发育候选基因及其调控网络构建[J].畜牧兽医学报,2024(11):4950-4967.
- [13] 尤科梅,孟科,田彦梅,等.基于转录组学挖掘滩羊肌肉生长发育相关的候选基因[J].西南农业学报,2024(3):641-647.
- [14] 张霞,袁清婷,赵加鼎,等.保山猪精子获能相关基因*ABHD2*的分子特征及转录调控研究[J].中国畜牧杂志,2024(8):155-162.
- [15] 江峰,朱勇,陈颖,等.孕酮通过*ABHD2*受体介导的cAMP-PKA信号通路调控精子受精功能的研究[J].中国男科学杂志,2020(6):12-16.
- [16] 荣轩,孟科,邵顺成,等.5个绵羊群体*LHCGR*基因多态性及其与产羔数的关联分析[J].农业生物技术学报,2022(12):2344-2353.
- [17] EIJPE M, OFFENBERG H, JESSBERGER R, et al. Meiotic cohesin REC8 marks the axial elements of rat synaptonemal complexes before cohesins SMC1beta and SMC3[J]. The Journal of Cell Biology, 2003, 160(5): 657-670.
- [18] ISHIGURO K I R, KIM J H, FUJIYAMA N S L, et al. A new meiosis-specific cohesin complex implicated in the cohesin code for homologous pairing[J]. EMBO Reports, 2011, 12(3): 267-275.

责任编辑:李远辉