

吴鹏飞, 夏树立, 于海涛, 等. 基于 WGCNA 挖掘天津猴鸡裸颈性状相关基因[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(5): 881-889.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2024.05.013

基于 WGCNA 挖掘天津猴鸡裸颈性状相关基因

吴鹏飞^{1,2,3}, 夏树立^{1,2,3}, 于海涛^{1,2,3}, 赵向华^{1,2,3}, 王 康⁴

(1.天津市农业科学院畜牧兽医研究所, 天津 300381; 2.天津市畜禽分子育种与生物技术重点实验室, 天津 300381; 3.天津市畜禽健康养殖工程技术中心, 天津 300381; 4.扬州大学动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

摘要: 天津猴鸡是中国珍贵的裸颈鸡遗传资源, 为在全基因组范围内探究其裸颈发育相关基因, 本研究采集天津猴鸡杂交 F₁ 代裸颈鸡和常羽鸡颈部皮肤组织用于转录组测序。加权基因共表达网络分析(WGCNA)结果显示, 识别到的 10 个基因模块中只有蓝绿色(turquoise)和蓝色(blue)基因模块与裸颈表型显著相关, 共计 583 个基因; GO 功能富集分析富集到脂滴组织、甘油三酯储存负调控以及肌肉收缩等脂肪和肌肉相关生物学过程等条目; KEGG 通路分析也富集到多条脂肪代谢相关通路, 包括 PPAR 信号通路和甘油酯代谢等; 蛋白质互作网络分析结果显示 ACTN2 基因编码的蛋白质的连通性最高, 其次是 MYL10 基因编码的蛋白质, 另外, 还发现多个密切参与毛囊发育的基因, 包括 SOX9 和 PPARGC 等。本研究结果将为进一步揭示并完善鸡裸颈的形成和发育奠定基础, 同时对天津猴鸡的保护、开发和利用具有重要意义。

关键词: 天津猴鸡; 裸颈性状; 加权基因共表达网络分析(WGCNA)

中图分类号: S831.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2024)05-0881-09

Exploration of genes related to the naked neck trait in Tianjin-monkey chickens based on WGCNA

WU Pengfei^{1,2,3}, XIA Shuli^{1,2,3}, YU Haitao^{1,2,3}, ZHAO Xianghua^{1,2,3}, WANG Kang⁴

(1. Institute of Animal Science and Veterinary, Tianjin Academy of Agricultural Sciences, Tianjin 300381, China; 2. Tianjin Key Laboratory of Animal Molecular Breeding and Biotechnology, Tianjin 300381, China; 3. Tianjin Engineering Research Center of Animal Healthy Farming, Tianjin 300381, China; 4. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: Tianjin-monkey chicken is a precious genetic resource of naked neck chicken in China. To identify genes related to the naked neck phenotype at the whole-genome level, we collected neck skin tissue from the hybrid F₁ generation of Tianjin-monkey chickens for transcriptome sequencing. The results showed that among the 10 gene modules identified by weighted gene co-expression network analysis (WGCNA), only the turquoise and blue modules were significantly associated with the naked neck phenotype, comprising a total of 583 genes. GO enrichment analysis revealed biological process terms related to fat and muscle, including lipid droplet organization, negative regulation of triglyceride storage and muscle contraction. KEGG pathway analysis also identified multiple pathways related to fat metabolism, such as PPAR signaling pathway and glycerolipid metabolism. Protein-protein interaction network analysis revealed that the protein encoded by ACTN2 had the highest connectivity, followed by the protein encoded by MYL10. Furthermore, several genes closely involved in

收稿日期: 2023-12-20

基金项目: 天津市农业科学院财政种业创新研究项目(2023ZYCX011)

作者简介: 吴鹏飞(1991-), 男, 河北衡水人, 博士, 助理研究员, 主要从事家禽育种研究工作。(E-mail) wu_pfei@163.com

通讯作者: 夏树立, (E-mail) tjxmsxshl@sina.com

hair follicle development, such as SOX9 and PPARGC, were also found. The results of this study can lay a foundation for further revealing and improving the formation and development of naked neck in chickens. Moreover, it is of great significance for the protection, develop-

ment, and utilization of Tianjin-monkey chicken.

Key words: Tianjin-monkey chicken; naked neck trait; weighted gene co-expression network analysis (WGCNA)

禽肉和禽蛋在市场上广受消费者欢迎,禽肉富含蛋白质、维生素和矿物质等,并含有少量饱和脂肪酸^[1];禽蛋是最常见的动物蛋白质来源之一,除维生素、矿物质和蛋白质外还含有丰富的抗氧化剂,如叶黄素和玉米黄质对眼睛健康大有裨益^[2]。过去几十年家禽产业在世界范围内获得快速发展,然而高密度饲养伴随着全球气候变暖以及夏季高温造成的热应激对家禽养殖的威胁越来越严重^[3]。鸡是恒温动物,成年个体体温维持在 $41\sim 42\text{ }^{\circ}\text{C}$ ^[4],蛋鸡最适环境温度为 $19\sim 20\text{ }^{\circ}\text{C}$,肉鸡最适环境温度为 $18\sim 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ^[5],环境温度过高可能会打破鸡体内产热和散热的动态平衡,导致热应激从而影响家禽的健康和生产性能^[6]。裸颈鸡主要分布于热带地区^[7],尤其是高温潮湿气候地区,由于羽毛覆盖率比常羽鸡低,裸颈鸡具有明显的抗热应激特性。天津猴鸡属于裸颈鸡的一种,属肉蛋兼用型地方品种,是中国珍贵的裸颈鸡遗传资源。

研究结果表明,裸颈性状由裸颈基因 *Na* 控制,位于常染色体,不完全显性遗传,该基因能减少鸡的羽毛覆盖率(相对于体重),与常羽鸡相比裸颈杂合个体(*Nana*)和纯合个体(*NaNa*)羽毛覆盖率分别减少 20% 和 40%^[8]。*Na* 基因起初被认为位于 1 号染色体上^[9],之后法国一个研究团队将其定位于 3 号染色体长臂的一段区域内^[10],并通过 SNP 标记缩小该区域至 770 kb,最终,通过检测该区域内基因的表达量鉴定到 *BMP12* 是裸颈发育的关键基因^[11]。骨形态发生蛋白(Bone morphogenetic protein, BMP)是一类生长因子,在胚胎发育、成骨、骨骼重塑和骨骼再生过程中起着重要的调节作用^[12],对毛囊的发育也起到重要作用^[13],研究人员在对鸡和小鼠皮肤的显微结构模型研究中发现, BMP 家族成员是羽毛基板形成的抑制因子^[14-16],而 Wnt/ β -catenin^[17-20]和 FGF^[21-22]是其激活因子。

然而,生物体的发育是复杂多样的,裸颈的发生必然是多基因共同作用的结果,本研究以裸颈鸡天津猴鸡为研究对象,采集颈部组织用于转录组测序,通过 WGCNA 分析在全基因组范围内寻找与裸颈相关的基因,以期对天津猴鸡的保种、开发和利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究将 48 羽天津猴鸡公鸡与 240 羽海兰褐母鸡进行杂交,在 F_1 代中,裸颈鸡和常羽鸡的个体数均在 300 羽左右。300 日龄时,在 F_1 代裸颈鸡和常羽鸡中分别选择 10 羽(5 羽公鸡和 5 羽母鸡),共 20 羽个体,采集颈部皮肤组织用于转录组测序分析,试验具体分 4 组:组 1,杂交 F_1 代常羽公鸡(ZYG);组 2,杂交 F_1 代常羽母鸡(ZYM);组 3,杂交 F_1 代裸颈公鸡(ZWG);组 4,杂交 F_1 代裸颈母鸡(ZWM)。

1.2 试验方法

利用 TRIzol(英杰生命技术有限公司产品)试剂采用常规方法提取组织总 RNA。使用 NanoDrop 2000 分光光度计(赛默飞世尔科技公司产品)鉴定 RNA 纯度并定量;利用 Agilent 2100 Bioanalyzer(安捷伦科技有限公司产品)评估 RNA 完整性;使用 VAHTS Universal V5 RNA-seq Library Prep 试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司产品)进行转录组文库构建。最后,委托上海欧易生物技术有限公司对文库进行测序分析,使用的测序平台为 Illumina Novaseq 6000,最终生成 150 bp 的双端 read,用于后续分析。

1.3 统计分析

利用 Fastp^[23] 软件对 raw read 进行处理,去除低质量 read 后获得 clean read。使用 HISAT 2^[24] 软件将 clean read 与参考基因组比对,通过 HTSeq-count^[25] 获得每个基因的 read 数,并进行基因表达量(*FPKM*)^[26] 计算。加权基因共表达网络分析(WGCNA)以测序获得的所有基因的 *FPKM* 表达矩阵文件为基础,进行表型相关基因模块挖掘,采用 R 软件中的 WGCNA 包进行分析。

2 结果与分析

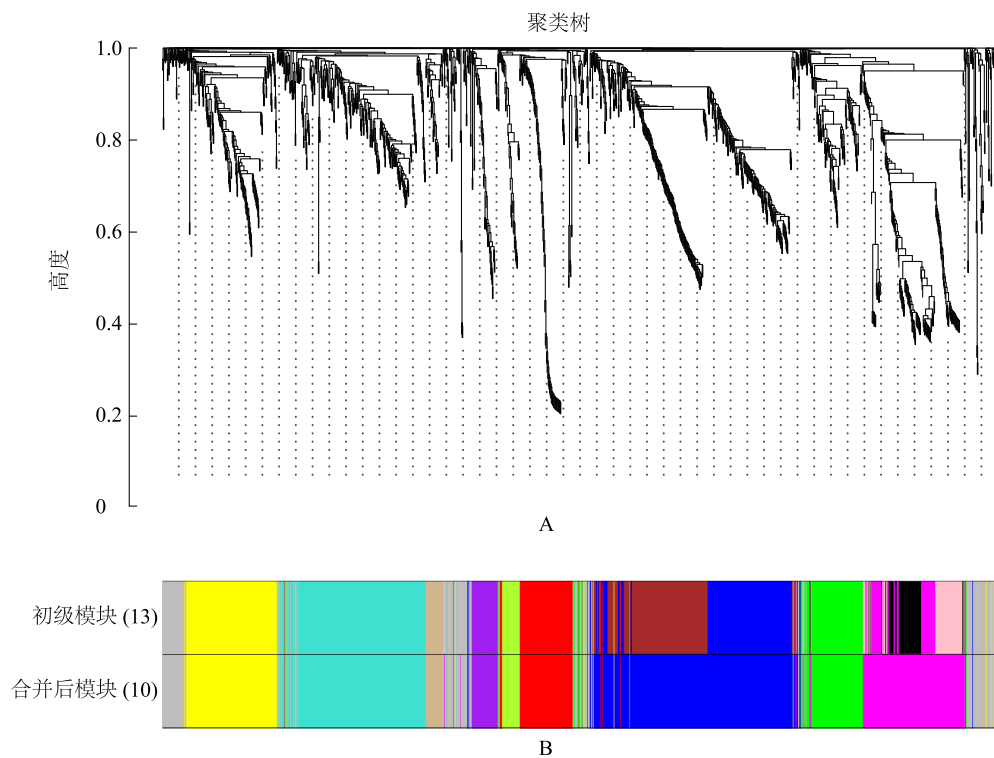
2.1 WGCNA 筛选裸颈相关基因模块

本研究对裸颈鸡裸颈部位皮肤组织和常羽鸡颈部皮肤组织进行转录组测序分析,在 20 个样本的原始数据中共检测到 16 859 个基因,将所有组别中基因表达量变化不明显(标准偏差 ≤ 0.5)的基因剔

除,最终剩余1 407个基因用于后续分析。WGCNA分析可以识别高度相关性基因所组成的基因簇[又称为基因模块(module)],最终可根据基因模块中核心基因将模块与表型进行关联分析。本研究中设置决定系数(R^2)>0.8,软阈值(β)=20。利用 Dynamic Tree Cut 方法共识别得到13个模块,然后将高度相似的基因模块进行合并最终得到10个基因模块(图1),它们分别为黄色(yellow)、棕褐色(tan)、蓝绿色(turquoise)、紫色(purple)、黄绿色(greenyellow)、红色(red)、蓝色(blue)、绿色

(green)、紫红色(magenta)和灰色(grey)模块,分别包含163、36、239、44、38、100、344、105、181和157个基因,其中,灰色模块中的基因没有参考意义。

本研究以相关系数 $|r| \geq 0.3$, $P < 0.05$ 为条件,共筛选到黄色、蓝绿色、红色和蓝色4个与天津猴鸡裸颈性状显著相关的基因模块(图2),考虑到基因模块在天津猴鸡裸颈公、母鸡与常羽公、母鸡中的负相关性,最终选择蓝绿色和蓝色模块中共计583个基因用于后续分析。



A: 构建的基因聚类树; B: 每个基因模块中基因的分布情况(同一种颜色表示同一个基因模块)。

图1 基因聚类和基因模块识别结果

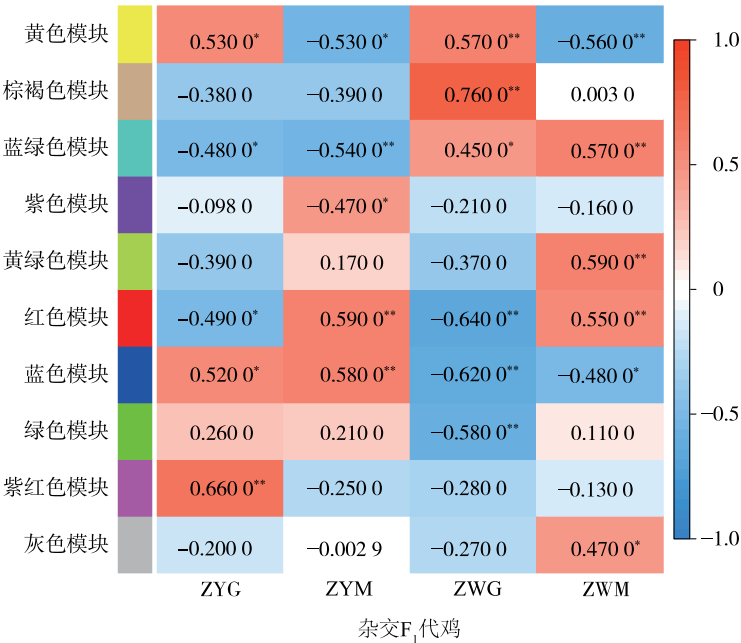
Fig.1 Results of gene clustering and gene module identification

2.2 蓝绿色和蓝色基因模块中基因富集

GO 功能分析显著富集到 77 条 GO 条目 ($Q < 0.05$), 包括 40 条生物学过程 (BP, biological process) 条目、18 条细胞组分 (CC, cellular component) 条目以及 19 条分子功能 (MF, molecular function) 条目, 图 3 为 TOP30 GO 条目的可视化结果。本研究重点关注 BP 条目, 结果发现脂滴组织 (Lipid droplet organization)、甘油三酯储存负调控 (Negative regulation of sequestering of triglyceride)、甘油三酯分解代谢过程 (Triglyceride catabolic process)、脂质沉

积 (Lipid storage) 和甘油三酯生物合成过程 (Triglyceride biosynthetic process) 等脂肪相关条目以及肌肉收缩 (Muscle contraction)、肌节组织 (Sarcomere organization)、肌原纤维组织 (Myofibril assembly) 等肌肉相关生物学过程条目。

KEGG 通路富集分析获得 10 条显著富集的通路 ($Q < 0.05$), 其中脂肪代谢相关通路占比较高, 包括 PPAR 信号通路 (PPAR signaling pathway)、甘油酯代谢 (Glycerolipid metabolism) 和脂肪酸生物合成 (Fatty acid biosynthesis), TOP20 通路 (图 4) 中脂肪



ZYG:杂交 F₁ 代常羽公鸡;ZYM:杂交 F₁ 代常羽母鸡;ZWG:杂交 F₁ 代裸颈公鸡;ZWM:杂交 F₁ 代裸颈母鸡。红色代表正相关,蓝色代表负相关;基因模块中的数值为相关系数;*表示相关性达显著水平($P<0.05$),**表示相关性达极显著水平($P<0.01$)。

图 2 各基因模块与裸颈性状的相关性
Fig.2 Correlation between each gene module and the naked neck trait

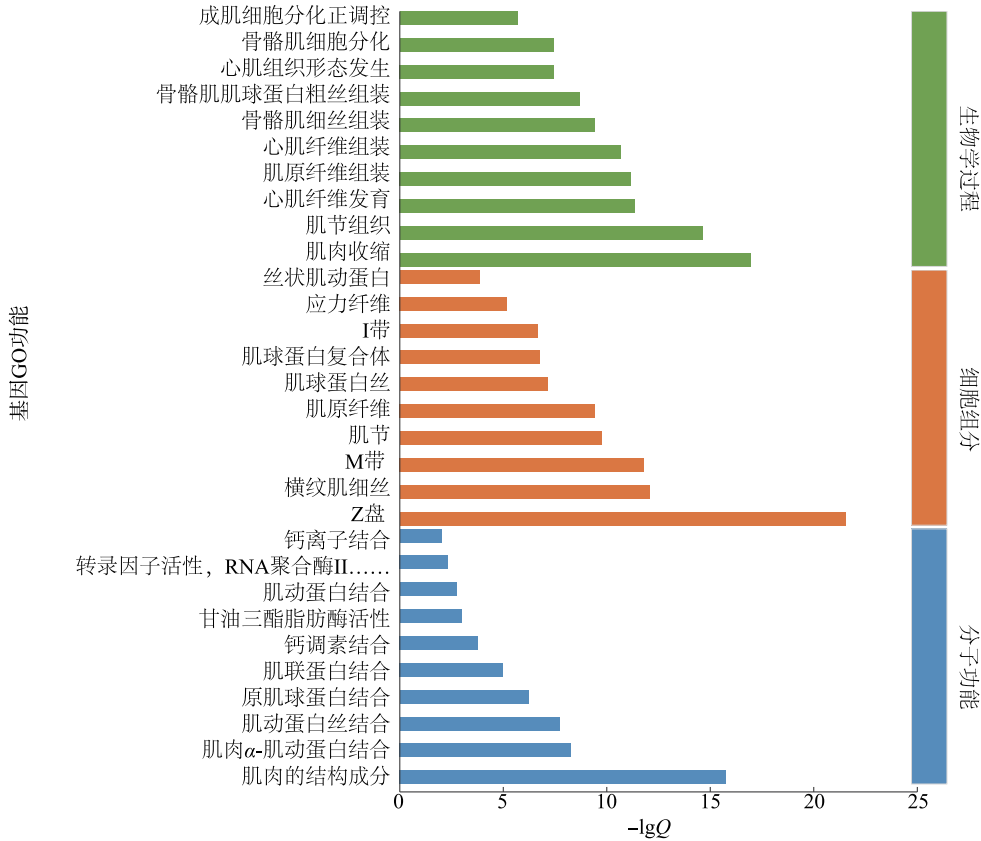


图 3 蓝色和蓝绿色基因模块中基因 GO 功能富集结果条形图
Fig.3 GO functional enrichment results of genes in blue and turquoise modules

细胞因子信号通路 (Adipocytokine signaling pathway)、脂肪酸降解 (Fatty acid degradation) 和甘油磷脂代谢 (Glycerophospholipid metabolism) 等也与脂肪代谢密切相关。此外, TOP20 通路中发现多条重要

的通路如钙信号通路 (Calcium signaling pathway)、神经活性配体-受体相互作用 (Neuroactive ligand-receptor interaction) 通路、TGF- β 信号通路和黏着斑 (Focal adhesion) 信号通路等。

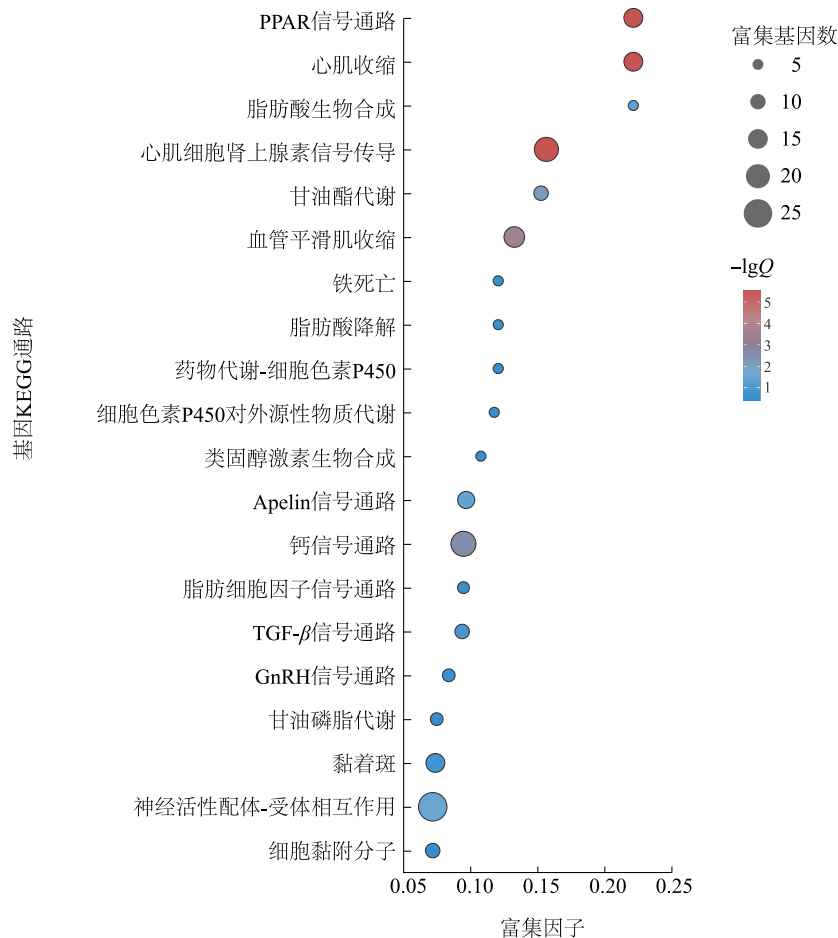


图4 蓝色和蓝绿色基因模块中基因 KEGG 通路富集气泡图

Fig.4 KEGG pathway enrichment results of genes in blue and turquoise modules

2.3 蛋白质互作网络

蛋白质互作网络分析结果显示,蓝绿色和蓝色 2 个基因模块中共 528 个基因编码蛋白质被 String (V12.0)数据识别,以度 (Degree) 表示节点 (基因编码蛋白质) 的连通性,度越高节点连通性越高,越处于核心位置。图 5 展示了度评分 ≥ 20 分的所有蛋白质的网络互作图,结果显示 *ACTN2* 基因编码蛋白质的连通性最高,其次是 *MYL10* 基因编码蛋白质,此外,发现多条与肌肉相关的基因编码蛋白质包括肌球蛋白轻链和重链的众多家族成员,以及多条与毛囊发育密切相关的基因编码蛋白质,包括 *SOX9* 和 *PPARGC* 等基因编码蛋白质。

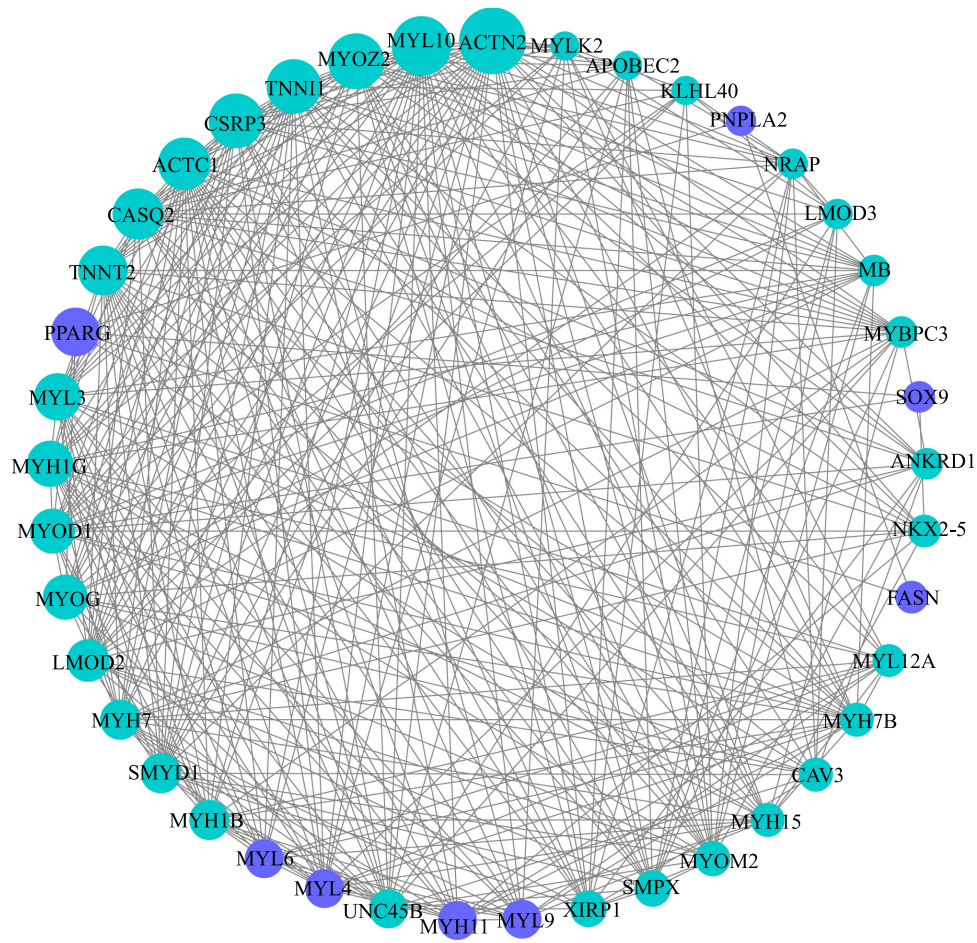
3 讨论

禽类的皮肤主要包括表皮、真皮和皮下组织 3 部分,毛囊由表皮和真皮的共同作用形成^[27];毛囊发育初期由间充质细胞相互凝集并分化为富有弹性的真皮层,紧接着表皮在真皮层诱导信号作用下开始伸长和集结,使得表皮逐渐变厚,形成羽毛基板,并促使真皮发育成真皮乳头 (毛乳头)。与此同时,在羽毛基板的作用下,表皮细胞再次发生凝集,表皮隆起形成羽芽,即为初级毛囊。羽毛由毛囊发育形成,是角质化的复杂表皮附属物,具有层次分明的分支结构^[28],起到保温、隔热、求偶、信息传递等作

用^[29]。毛囊的形成和羽毛发育涉及到众多生物过程以及调控分子,包括成纤维细胞生长因子^[30]、表皮生长因子^[31]以及 Wnt/ β -catenin 信号通路^[32]、TGF- β 信号通路^[33]和 BMP 信号通路等^[34]。

本研究采集杂交 F₁ 代裸颈天津猴鸡以及杂交 F₁ 代常羽天津猴鸡颈部皮肤组织进行转录组测序分析,

结合 WGCNA 分析以期在全基因组范围内挖掘与天津猴鸡裸颈发育相关的基因。结果共筛选到 1 407 个基因,并进行基因模块构建,同时将表型与基因模块关联分析,最终筛选到蓝绿色和蓝色 2 个基因模块中共计 583 个基因与裸颈表型呈显著相关。



每个节点表示 1 个基因编码的蛋白质,节点大小表示度 (Degree),度越大节点越大,不同颜色表示不同基因模块中基因编码的蛋白质。

图 5 度评分 ≥ 20 的所有蛋白质的网络互作图

Fig.5 Network interaction diagram of all proteins with degree score not less than 20

对蓝绿色和蓝色 2 个基因模块中基因进行 GO 功能分析,结果发现多条与脂肪相关的显著富集 BP 条目。皮下组织是皮肤的最底层,主要由脂肪组织和结缔组织构成,连接真皮和肌肉。研究发现,包围毛囊的脂肪组织在毛囊生长期增加,而在毛囊休止期减少,这表明皮下脂肪细胞在延长毛囊生长期方面起着关键作用;此外,皮下脂肪富含多种干细胞,它们分泌的各种生长因子已被证实可以促进毛发生长,包括 VEGF、HGF、IGF-1、PDGF、KGF 以及 FGF-1

和 FGF-2 等^[35-36]。肌肉是皮下脂肪紧密相连的组织,家禽颈部皮下肌肉不仅可以提供支撑和稳定的作用,还是帮助保护头部和颈部的重要结构,隔离和保护颈部的血管和神经^[37],此外,颈部肌肉的运动可以增加血液流动和营养供应,有助于羽毛的形成和生长;毛囊周围存在小带状的平滑肌,又称竖毛肌 (Arrector pili muscle),它们与毛囊干细胞区域之间存在着动态的相互作用,有助于促进皮肤再生过程中的毛囊生长和组织重建^[38],本研究发现多条显著

富集的肌肉相关 BP 条目可能与其相关。

KEGG 通路富集分析获得 10 条显著富集的通路,其中甘油酯代谢、脂肪酸生物合成可能与皮下脂肪发育相关,此外, TOP20 通路中还发现 PPAR 信号通路、脂肪细胞因子信号通路、脂肪酸降解和甘油磷脂代谢等脂肪相关通路。家禽皮下脂肪主要由 3 种成分组成:甘油三酯、脂肪酸和胆固醇。甘油三酯占据了大部分的皮下脂肪组织,由甘油和 3 个脂肪酸分子结合而成,是能量的主要储存形式;脂肪酸是家禽皮下脂肪的另一个重要成分,分为饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸;胆固醇是一种脂类物质,也是家禽皮下脂肪的组成部分之一^[39-40]。

此外,研究发现钙信号通路与毛囊发育之间存在密切关系,通路中的一些关键成员,如钙调素和钙离子通道蛋白可以影响毛囊细胞的功能和生长,它们通过调节细胞内钙离子浓度,影响毛囊细胞的代谢活性和信号传导,从而影响毛囊的发育和生长^[41]。神经活性配体-受体相互作用通路是一种重要的信号传导通路,研究结果表明通路中的神经递质如乙酰胆碱、多巴胺和 5-羟色胺等可能通过与相应的受体结合,调节毛囊干细胞的增殖和分化,影响毛囊周期性生长的不同阶段^[42-43]。TGF- β 可通过调控毛囊干细胞的增殖、分化和存活,影响毛囊的生长周期和再生能力,此外, TGF- β 信号通路还参与调控毛囊的周期性转变,包括毛囊的生长期、退行期和休止期的转换^[44]。黏着斑通路是细胞内信号传导通路,可通过调节细胞外基质与细胞内骨架的相互作用,影响毛囊干细胞的增殖和分化,从而影响毛囊的发育和再生^[45]。

蛋白质网络互作发现 *ACTN2* 基因编码蛋白质的连通性最高,位于蓝绿色基因模块,并在裸颈皮肤中高表达,该基因编码的蛋白质参与细胞骨架和肌肉的收缩,目前,虽没有直接研究结果表明 *ACTN2* 参与毛囊发育,但在衰老性脱羽中发现该基因的表达量呈现下调趋势^[46];其次, *MYL10* 基因编码蛋白质的连通性最高,也位于蓝绿色基因模块,该基因编码的蛋白质是肌球蛋白轻链的家族成员之一, Adam 等^[47] 研究发现 *MYL10* 基因通过参与 Wnt 信号通路和 LEF1 相互作用,最终调控毛囊干细胞的命运和毛囊发育过程。蛋白质互作网络中还发现位于蓝色基因模块中的 *MYL4*、*MYL6*、*MYL9* 和位于蓝绿色模块中的 *MYL3*、*MYL12A* 等多个同家族成员,推测其

可能也参与毛囊的发育进程;此外,蛋白质互作网络中还发现多条肌球蛋白重链基因家族成员 (*MYH11*、*MYH15*、*MYH1B*、*MYH1G*、*MYH7*、*MYH7B*),它们编码的蛋白质与肌球蛋白轻链共同组成了肌肉中的主要成分肌球蛋白^[48],同时肌肉与毛囊发育相关,因此,推测上述基因也与毛囊发育相关。

毛囊周期性生长是由静止毛囊底部干细胞推动的, Kadaja 等^[49] 通过条件性靶向成年小鼠毛囊干细胞中的 *SOX9* 基因,发现该基因对毛囊干细胞的维持至关重要,同时能抑制毛囊干细胞向表皮细胞分化;另一项研究在一家患有多毛症的家族中发现 *SOX9* 基因上游的拷贝数变异显著降低了毛囊中该基因的表达,表明该基因与毛囊发育密切相关^[50]; Ho 等^[51] 研究发现 *PPARGC* 基因亚型 *PPARGC1 α* 在男性雄激素性脱发患者的毛囊中表达逐渐增加,且该基因在小鼠的毛发周期中呈现表达动态变化,进一步试验结果表明, *PPARGC1 α* 的激活可以减少人类毛囊皮层细胞和上皮角质细胞的增殖,从而影响毛发的生长和发育。

4 结 论

本研究通过对天津猴鸡杂交 F_1 代裸颈鸡和常羽鸡颈部皮肤组织进行转录组测序,结合 WGCNA 分析发现多条重要的 BP 条目以及 KEGG 通路,包括脂滴组织、甘油三酯储存负调控、甘油三酯分解代谢、肌肉收缩和肌节组织以及 PPAR 信号通路、钙信号通路和 TGF- β 信号通路,同时,蛋白质互作发现了 *ACTN2*、*MYL10*、*SOX9* 和 *PPARGC* 等重要基因,本研究结果将为天津猴鸡的保护、开发和利用提供一定参考作用。

参考文献:

- [1] MARANGONI F, CORSELLO G, CRICELLI C, et al. Role of poultry meat in a balanced diet aimed at maintaining health and wellbeing: an Italian consensus document [J]. Food & Nutrition Research, 2015, 59: 27606.
- [2] ZAHEER K. An updated review on chicken eggs: production, consumption, management aspects and nutritional benefits to human health [J]. Food & Nutrition Sciences, 2015, 6(13): 1208-1220.
- [3] GOO D, KIM J H, PARK G H, et al. Effect of heat stress and stocking density on growth performance, breast meat quality, and intestinal barrier function in broiler chickens [J]. Animals (Basel), 2019, 9(3): 107.
- [4] KHAN R U, NIKOUSEFAT Z, SELVAGGI M, et al. Effect of as-

- corbic acid in heat-stressed poultry[J]. *Worlds Poultry Science Journal*, 2012, 68(3): 477-490.
- [5] NAGA RAJA KUMARI K, NARENDRA NATH D. Ameliorative measures to counter heat stress in poultry[J]. *World's Poultry Science Journal*, 2018, 74(1): 117-130.
- [6] WASTI S, SAH N, MISHRA B. Impact of heat stress on poultry health and performances, and potential mitigation strategies[J]. *Animals (Basel)*, 2020, 10(8): 1266.
- [7] GERAERT P A, GUILLAUMIN S, LECLERCQ B. Are genetically lean broilers more resistant to hot climate?[J]. *British Poultry Science*, 1993, 34(4): 643-653.
- [8] MERAT P. Potential usefulness of the *Na (Naked Neck)* gene in poultry production[J]. *World's Poultry Science Journal*, 1986, 42(2): 124-142.
- [9] SOMES R G. International registry of poultry genetic stocks[J]. *Bulletin Storrs Agricultural Experiment Station University of Connecticut*, 1988, 94(92): 50-57.
- [10] PITEL F, BERGÉ R, COQUERELLE G, et al. Mapping the *Naked Neck (NA)* and *Polydactyly (PO)* mutants of the chicken with microsatellite molecular markers[J]. *Genetics Selection Evolution*, 2000, 32(1): 73-86.
- [11] MOU C, PITEL F, GOURICHON D, et al. Cryptic patterning of avian skin confers a developmental facility for loss of neck feathering[J]. *PLoS Biology*, 2011, 9(3): e1001028.
- [12] ZORICIC S, MARIC I, BOBINAC D, et al. Expression of bone morphogenetic proteins and cartilage-derived morphogenetic proteins during osteophyte formation in humans[J]. *Journal of Anatomy*, 2003, 202(Pt 3): 269-277.
- [13] 余哲琪, 田佳迎, 李启黄, 等. *p38 MAPK* 抑制剂对热应激雌性雏鸡主要生殖激素分泌的影响[J]. *中国家禽*, 2021, 43(1): 76-80.
- [14] NORAMLY S, MORGAN B A. BMPs mediate lateral inhibition at successive stages in feather tract development[J]. *Development*, 1998(19): 125.
- [15] JUNG H S, FRANCIS-WEST P H, WIDELITZ R B, et al. Local inhibitory action of BMPs and their relationships with activators in feather formation; implications for periodic patterning[J]. *Developmental Biology*, 1998, 196(1): 11-23.
- [16] MOU C, JACKSON B, SCHNEIDER P, et al. Generation of the primary hair follicle pattern[J]. *National Academy of Sciences*, 2006, 103: 9075-9080.
- [17] SICK S, REINKER S, TIMMER J, et al. *Wnt* and *DKK* determine hair follicle spacing through a reaction-diffusion mechanism[J]. *Science*, 2006, 314(5804): 1447-1450.
- [18] NORAMLY S, FREEMAN A, MORGAN B A. Beta-catenin signaling can initiate feather bud development[J]. *Development*, 1999, 126(16): 3509-3521.
- [19] WIDELITZ R B, JIANG T X, LU J, et al. Beta-catenin in epithelial morphogenesis; conversion of part of avian foot scales into feather buds with a mutated beta-catenin[J]. *Developmental Biology*, 2000, 219(1): 98-114.
- [20] ANDL T, REDDY S T, GADDAPARA T, et al. *Wnt* signals are required for the initiation of hair follicle development[J]. *Developmental Cell*, 2002, 2(5): 643-653.
- [21] MANDLER M, NEUBÜSER A. FGF signaling is required for initiation of feather placode development[J]. *Development*, 2004, 131(14): 3333-3343.
- [22] SONG H K, LEE S H, GOETINCK P F. FGF-2 signaling is sufficient to induce dermal condensations during feather development[J]. *Developmental Dynamics*, 2004, 231(4): 741-749.
- [23] CHEN S, ZHOU Y, CHEN Y, et al. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): i884-i890.
- [24] KIM D, LANGMEAD B, SALZBERG S L. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements[J]. *Nature Methods*, 2015, 12(4): 357-360.
- [25] ANDERS S, PYL P T, HUBER W. HTSeq—a Python framework to work with high-throughput sequencing data[J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(2): 166-169.
- [26] ROBERTS A, TRAPNELL C, DONAGHEY J, et al. Improving RNA-Seq expression estimates by correcting for fragment bias[J]. *Genome Biology*, 2011, 12(3): R22.
- [27] 王宇栋. ERK/Wnt 信号通路调控吉林白鹅胚胎期皮肤毛囊生长发育的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2023.
- [28] DHOUAILLY D. A new scenario for the evolutionary origin of hair, feather, and avian scales[J]. *Journal of Anatomy*, 2009, 214(4): 587-606.
- [29] HUBBARD J K, UY J A, HAUBER M E, et al. Vertebrate pigmentation: from underlying genes to adaptive function[J]. *Trends in Genetics*, 2010, 26(5): 231-239.
- [30] YUE Z, JIANG T X, WU P, et al. Sprouty/FGF signaling regulates the proximal-distal feather morphology and the size of dermal papillae[J]. *Developmental Biology*, 2012, 372(1): 45-54.
- [31] 王睿智. 济宁青山羊毛囊发育特性与 *EGF*、*IGF2* 基因差异表达的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2011.
- [32] DASGUPTA R, FUCHS E. Multiple roles for activated LEF/TCF transcription complexes during hair follicle development and differentiation[J]. *Development*, 1999, 126(20): 4557-4568.
- [33] NIIMORI D, KAWANO R, FELEMBAN A, et al. Tsukushi controls the hair cycle by regulating TGF- β 1 signaling[J]. *Developmental Biology*, 2012, 372(1): 81-87.
- [34] SONG L L, CUI Y, YU S J, et al. Expression characteristics of BMP2, BMPR-IA and Noggin in different stages of hair follicle in yak skin[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2018, 260: 18-24.
- [35] NEPAL S, VENKATARAM A, MYSORE V. The role of adipose tissue in hair regeneration: a potential tool for management?[J]. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*, 2021, 14(3): 295-304.
- [36] PARK P J, CHO E G. Kojyl cinnamate ester derivatives increase

- adiponectin expression and stimulate adiponectin-induced hair growth factors in human dermal papilla cells [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(8):1859.
- [37] RAHMAN M T, SOBUR M A, ISLAM M S, et al. Zoonotic diseases: etiology, impact, and control [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(9):1405.
- [38] TORKAMANI N, RUFAUT N, JONES L, et al. The arrector pili muscle, the bridge between the follicular stem cell niche and the interfollicular epidermis [J]. *Anatomical Science International*, 2017, 92(1):151-158.
- [39] KOWALSKA E, KUCHARSKA-GACA J, KUZNIACKA J, et al. Effects of legume-diet and sex of ducks on the growth performance, physicochemical traits of meat and fatty acid composition in fat [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1):13465.
- [40] FOUAD A M, EL-SENOUSEY H K. Nutritional factors affecting abdominal fat deposition in poultry; a review [J]. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 2014, 27(7):1057-1068.
- [41] KHAJEH N, SCHACHLER K, BERGHÖFER J, et al. Altered hair root gene expression profiles highlight calcium signaling and lipid metabolism pathways to be associated with curly hair initiation and maintenance in Mangalitza pigs [J]. *Frontiers in Genetics*, 2023, 14:1184015.
- [42] BHAT B, YASEEN M, SINGH A, et al. Identification of potential key genes and pathways associated with the Pashmina fiber initiation using RNA-seq and integrated bioinformatics analysis [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1):1766.
- [43] MABROUK I, ZHOU Y, WANG S, et al. Transcriptional characteristics showed that *miR-144-y/FOXO3* participates in embryonic skin and feather follicle development in zhedong white goose [J]. *Animals (Basel)*, 2022, 12(16):2099.
- [44] RISHIKAYSH P, DEV K, DIAZ D, et al. Signaling involved in hair follicle morphogenesis and development [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(1):1647-1670.
- [45] LI C, FENG C, MA G, et al. Time-course RNA-seq analysis reveals *stage-specific* and *melatonin-triggered* gene expression patterns during the hair follicle growth cycle in *Capra hircus* [J]. *BMC Genomics*, 2022, 23(1):140.
- [46] MIRMIRANI P, KARNIK P. Comparative gene expression profiling of senescent and androgenetic alopecia using microarray analysis [M]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010: 67-76.
- [47] ADAM R C, YANG H, GE Y, et al. Temporal layering of signaling effectors drives chromatin remodeling during hair follicle stem cell lineage progression [J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(3):398-413.
- [48] SCHIAFFINO S, ROSSI A C, SMERDU V, et al. Developmental myosins: expression patterns and functional significance [J]. *Skeletal Muscle*, 2015, 5:22.
- [49] KADAJA M, KEYES B E, LIN M, et al. *SOX9*: a stem cell transcriptional regulator of secreted niche signaling factors [J]. *Genes & Development*, 2014, 28(4):328-341.
- [50] FANTAUZZO K A, KURBAN M, LEVY B, et al. *Trps1* and its target gene *SOX9* regulate epithelial proliferation in the developing hair follicle and are associated with hypertrichosis [J]. *PLoS Genetics*, 2012, 8(11):e1003002.
- [51] HO B S, VAZ C, RAMASAMY S, et al. Progressive expression of *PPARGC1α* is associated with hair miniaturization in androgenetic alopecia [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1):8771.

(责任编辑:黄克玲)