

冯宇妍, 陈晓静, 朱欢喜, 等. 基于 RNA-seq 探究光周期对扬州鹅睾丸发育的影响机制 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (6): 61-68.

FENG Y Y, CHEN X J, ZHU H X, et al. Effect analysis of photoperiod on testis development of Yangzhou geese based on RNA-seq technology [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (6): 61-68.

基于 RNA-seq 探究光周期对扬州鹅睾丸发育的影响机制

冯宇妍¹, 陈晓静¹, 朱欢喜², 倪迎冬^{1*}, 刘杰^{2*}

(1. 南京农业大学动物医学院/农业农村部动物生理生化重点实验室, 江苏 南京 210095;

2. 江苏省农业科学院畜牧研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 旨在探究光周期对扬州鹅睾丸发育的影响及机制。试验对象为经产扬州鹅 (735 d, 公母比例为 1:5), 饲养于全封闭人工控制光照和温度的棚舍内 (1 500 只/棚), 饲养期间光照程序为短光照 (L:D=6.5 h:17.5 h) 饲养 60 d, 随后延长光照 (L:D=11.5 h:12.5 h) 饲养, 分别于短光照第 38 天 (短光照组) 以及长光照第 73 天 (长光照组) 采集血液, 分离血清并检测相关的生理生化指标和激素水平; 采集其左侧睾丸组织进行转录组测序 (RNA sequencing, RNA-seq) 分析, 筛选不同光周期的差异基因, 并对差异基因进行富集分析。结果: 与短光照组相比, 长光照组睾丸体积增大、曲细精管中有大量的成熟精子, 且曲细精管直径、上皮高度、管腔直径、精子数量均有显著升高 ($P<0.05$); 长光照组血液中睾酮 (T)、促卵泡激素 (FSH)、黄体生成素 (LH) 浓度均显著高于短光照组 ($P<0.05$); RNA-seq 测序结果显示, 与短光照组相比, 长光照组扬州鹅睾丸组织中表达上调的基因有 4 383 个, 表达下调的基因有 2 928 个; 其差异表达基因主要富集于细胞外基质 (ECM) 与细胞表面受体之间的相互作用、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (AKT) 信号通路、核糖体等通路。综上, 延长光照后 PI3K-AKT 通路被激活, 从而促进扬州鹅睾丸发育, 为深入认识光照对动物繁殖的调控作用提供了参考资料。

关键词: 扬州鹅; 光照; RNA-seq; 睾丸

中图分类号: S835 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2025)06-0061-08

Effect analysis of photoperiod on testis development of Yangzhou geese based on RNA-seq technology

FENG Yuyan¹, CHEN Xiaojing¹, ZHU Huanxi², NI Yingdong^{1*}, LIU Jie^{2*}

(1. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University/Key Laboratory of Animal Physiology and Biochemistry, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing 210095, China;

2. Institute of Animal Husbandry, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: This study aimed to explore the mechanism of the effect of photoperiod on the development of goose testis. The experimental subjects were Yangzhou geese (735 days of age, male to female ratio of 1:5), raised in fully enclosed artificial sheds with controlled light and temperature (1 500 geese per shed). During the feeding period, the light program was short light (L:D=6.5 h:17.5 h) feeding for 60 days, followed by extended light (L:D=11.5 h:12.5 h) feeding. The blood samples were collected from the geese on the 38th day of short light (the short light group) and the 73rd day of long light (the long light group), and serum was separated to detect relevant physiological and biochemical indicators and hormone levels. The left testicular tissue samples were used for transcriptome sequencing (RNA seq) analysis; and differentially expressed genes (DEGs) were screened between the short light and long light groups. The results showed that the testis volume was increased in the long light group, compared with that in the short light group, together with a large number of mature sperm in the seminiferous, increased seminiferous tubule diameter, epithelial height, and lumen diameter ($P<0.05$). The levels of blood testosterone (T), follicle-stimulating hormone (FSH), and luteinizing hormone (LH) concentrations were significantly higher in the long light group than those in the short light group. The transcriptome sequencing results showed that 4 383 genes were significantly upregulated and 2 928 genes were downregulated in the long light group, compared with those in the short light group. The DEGs were mainly enriched in

收稿日期: 2024-09-13; 修回日期: 2025-04-30

基金项目: 江苏省农业科技自主创新项目 (CX (24) 1012); 江苏省种业振兴“揭榜挂帅”项目 (JBGS (2021) 111)

第一作者: 冯宇妍, 女, 博士研究生

* 通信作者: 倪迎冬, 博士, 教授, 主要从事消化道生理与免疫研究, E-mail: niyingdong@njau.edu.cn; 刘杰, 博士, 助理研究员, 主要从事家禽繁殖调控研究, E-mail: liujie891213@163.com。

ECM-receptor interaction, the PI3K-AKT signaling pathway, Ribosome, and so on. It can be concluded that the PI3K-AKT pathway was activated by prolonged light, thereby promoting the development of goose testis. This experiment provided important evidence for further understanding the regulatory mechanism of light on animal reproduction.

Keywords: Yangzhou goose; light exposure; transcriptome; testis

我国是世界上最大的鹅肉生产和消费国, 养殖量、出栏量、鹅肉产品和鹅羽绒制品产销量均居世界首位。我国鹅产业发展迅速, 且前景美好, 但是我国对养殖业的环保要求越来越高, 种鹅的养殖模式正逐渐向全舍内饲养模式转变, 如何在全舍饲模式下充分发挥种鹅繁殖能力成为产业重点关注的问题之一。光照是调节种鹅繁殖最重要的环境因素^[1-2], 目前全舍饲模式下, 主要通过人工光照技术调节种鹅的繁殖活动^[3], 但是光照调控种鹅繁殖的内在分子机制仍需进一步阐明。

禽类是典型的季节性繁殖动物, 对光照反应敏感, 且与哺乳动物不同, 光照能够直接穿透颅骨作用于深脑光感受器 (DBP), 如黑视蛋白酶 (Opn4)、神经蛋白酶/视蛋白酶 5 (Opn5) 和脊椎动物古视蛋白 (VAO) 等^[4-6]。目前关于光照调控禽类繁殖的机制研究主要集中于中枢神经系统, 经典的研究理论认为光照穿透颅骨后, 在光感蛋白介导下, 通过促甲状腺激素/2型脱碘酶/三碘甲腺原氨酸 (TSH/DIO2/T3) 通路调节促性腺激素释放激素 (Gonadotropin-releasing hormone, GnRH) 合成与分泌^[7-8], 最终影响动物繁殖行为。研究表明光照会影响睾丸发育, 如缩短光周期会促进日本鹌鹑睾丸细胞凋亡, 导致睾丸停止发育或者退化^[9]; Gill 等^[10]研究发现白光和红光可以刺激火鸡的性成熟并促进睾丸和生精小管的发育; Chang 等^[11]发现, 白光组与蓝光组相比, 公鹅繁殖性能提高, 如公鹅精子活力较强, 同时精子活率也显著提高。但是光照是如何调控睾丸发育, 其具体分子机制尚不清晰。

本文以扬州鹅为试验模型, 在不同光周期采集样品, 采用转录组测序 (RNA-seq) 技术对其睾丸进行分析, 在明确光照影响禽类繁殖的基础上探索其分子机制, 旨在完善光照调控种公鹅繁殖行为的理论, 为家禽育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物与方法

试验地点为桂柳牧业有限公司, 本试验选用经产扬州鹅为研究对象 (日龄 735 d, 性别配比为公母 1:5), 采用全封闭环境可控型棚舍进行集约化饲养 (饲养密度 1 500 羽/棚)。试验期间严格实施人工光温调控程序: 初期进行为期 60 d 的短光照处理 (L:

D=6.5 h:17.5 h), 随后进入光照刺激期, 将光照时长延长至 11.5 h (L:D=11.5 h:12.5 h)。饲喂方案实施梯度营养管理: 在短光照处理启动前 35~40 d, 采用后备种鹅专用饲料并实施限饲管理, 每天 700 g/羽; 自短光照处理第 35~40 天起逐步建立自由采食模式。当进入长光照刺激阶段后, 调整饲料为产蛋前期专用配方, 待群体产蛋率达到 20% 临界值时, 及时更换为产蛋高峰期专用高营养浓度饲料, 以满足繁殖期营养需求。分别于短光照第 38 天 (短光照组) 和长光照开产后第 73 天 (长光照组) 选取 5 只公鹅进行采样, 采集睾丸组织样品, 液氮短暂保存后放入 -80 °C 冰箱保存; 采集血液于 2 000 r/min 离心 5 min 后, 吸取上层血清, 保存在 -80 °C 冰箱。

1.2 血清指标测定

使用自动生化分析仪检测扬州鹅血清中肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH)、丙氨酸转氨酶 (ALT)、甘油三酯 (TG)、天门冬氨酸转氨酶 (AST)、总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、总胆红 (TBIL)、磷 (P)、胆固醇 (CHOL)、球蛋白 (GLOB) 的含量, 试剂盒购自美康生物科技股份有限公司。

将血清从 -80 °C 取出, 室温下解冻, 用酶联免疫试剂盒测定血清中睾酮 (T)/促卵泡激素 (FSH)/促黄体生成素 (LH) 的含量。根据试剂盒说明书, 具体操作如下: 试验前将试剂盒室温平衡 1 h, 按检测样本量确定所需板条数; 提前配制洗涤液 (1:20 稀释), 备用。标准曲线制备取连续 6 孔, 每孔加入 50 μL 梯度标准品 (双复孔设置), 空白对照孔保持空置。样本孔加入 50 μL 待测血清; 除空白孔外, 各孔加入 100 μL HRP 标记检测抗体; 封板膜覆盖后 37 °C 孵育 1 h。弃去孔内液体, 吸水纸拍干后, 每孔注入 350 μL 稀释洗涤液, 静置 20 s 弃液拍干, 重复 5 次。各孔加入现配底物 A/B 混合液 100 μL, 37 °C 避光孵育 15 min; 每孔加入 50 μL 终止液终止反应; 立即用酶标仪于 450 nm 波长测定 OD 值。采用 ELISA Calc 软件进行四参数 Logistic 曲线拟合, 计算样本浓度。

1.3 基因表达测定

将睾丸组织经液氮研磨后, 取出一部分放入 2 mL 无酶离心管中。加入 1 mL TRIzol 后使用混匀器混匀, 并在室温静置 30 s。随后, 吸取 200 μL 氯仿加入样品管中, 用混匀器剧烈震荡 15 s, 然后在室温

静置 5 min。接下来进行 12 000 r/min、4 ℃ 离心 15 min。离心后，吸取约 500 μL 上层水相，移至 1.5 mL 无酶 EP 管中，并加入相等体积的预冷异丙醇，上下颠倒混匀数十次，然后放入 -20 ℃ 静置 1 h。取出样品管，进行 12 000 r/min、4 ℃ 离心 15 min。在此期间，准备 75% 乙醇。离心完毕后倒去液体，加入 1 mL 75% 乙醇，轻弹管底使沉淀悬浮，室温静置 3 min，再进行 12 000 r/min、4 ℃ 离心 5 min 洗涤 2 次。最后，使用迷你离心机快速离心后用移液枪将乙醇吸干净，打开管盖，放置在超净台中干燥 5 min。根据 RNA 沉淀的量加入适量的 DEPC 水，在 55 ℃ 水浴锅中静置 5 min，然后进行 RNA 的离心、混匀和再次离心操作。最终使用 Nanodrop 2000 仪器测定样品总 RNA 的浓度。

依据 RNA 浓度进行反转，确保每个样品中 RNA 的质量均为 1 000 ng，浓度为 500 ng/μL。吸取 2 μL 统一浓度后的 RNA 溶液至 200 μL 无酶 EP 管中，加入 RNase Free ddH₂O 10 μL 和 4× gDNA wiper mix

4 μL，彻底混匀后，将混合物放置于 PCR 扩增仪中进行 42 ℃ 反应 2 min。反应结束后，加入 5× Hiscript III qRT superMix 4 μL，再次充分混匀后，在 PCR 扩增仪中设置 50 ℃ 15 min；85 ℃ 5 s 的反转程序。反转好的 cDNA 取出 5 μL 至新的 200 μL 无酶 EP 管中，加入高压水 95 μL 使其稀释 20 倍，用作荧光定量 PCR。

提取扬州鹅睾丸组织总 RNA，实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测减数分裂重组蛋白 1 (DMC1)、细胞色素 B 族成员 26B1 (CYB26B1)、细胞色素 P450 家族 19 亚家族 A 成员 1 (CYP19A1)、细胞色素 P450 家族 11 亚家族 A 成员 1 (CYP11A1)、细胞色素 P450 家族 17 亚家族 A 成员 1 (CYP17A1) 基因的表达量，试剂购自南京诺唯赞生物科技有限公司。RT-qPCR 数据的分析方法采用 2^{-ΔΔCt} 法，内参基因为甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)。使用 Primer 5.0 软件设计，所有引物由擎科生物有限公司合成。引物序列如下：

表 1 PCR 引物序列

基因	基因序列号	引物长度/bp	引物序列 (5'→3')
GAPDH	NM_204305.1	120	F: GCCATCACAGCCACACAGA R: TTTCCCCACAGCCTTAGCA
DMC1	XM_013181100.2	183	F: TGGCTGTGTTTGTGACCAAT R: CAGGCATCTCAGGACTGTCA
CYB26B1	XM_048045651.1	98	F: AAACCTTCCACTGGCTCCTG R: GGAAGGTGAGCTTCTGGCTC
CYP19A1	AH_002433.2	152	F: TCCCAGATCCTCCAGCGTAT R: TGATAGAGTGCGCCAGTGTG
CYP11A1	KY_463321.1	249	F: TGCTGCAGGACTTTGTGG R: TGGAGAGGATGCCCCATGT
CYP17A1	XM_048074602.1	145	F: GTGCTACAGCCTGCGCTC R: TTCAGCGTCTTGTGCGATGCT

1.4 RNA-seq 试验流程

采集扬州鹅左侧睾丸组织进行 RNA-seq 分析。提取睾丸 RNA 后，使用 Oligo (dT) 磁珠富集带有 polyA 尾巴的真核 mRNA，并用超声波断裂 mRNA。以片段化 mRNA 为模板，使用随机寡核苷酸合成 cDNA 第一条链，随后 RNaseH 降解 RNA 链，再使用 DNA polymerase I 合成 cDNA 第二条链。纯化的双链 cDNA 进行末端修复、加 A 尾并连接测序接头，用 AMPure XP beads 筛选大约 200 bp 的 cDNA，进行 PCR 扩增，再使用 AMPure XP beads 纯化 PCR 产物，最终得到文库。所得 cDNA 文库使用 Illumina Novaseq 6000 进行测序。本试验测序委托广州基迪奥生物科技有限公司完成。

1.5 数据统计与分析

数据以“平均值 ± 标准误”表示，采用 SPSS 26.0 进行单因素方差分析 (One-way ANOVA)，进行组间比较，以 $P < 0.05$ 表示差异显著， $P < 0.01$ 表示差异极显著。

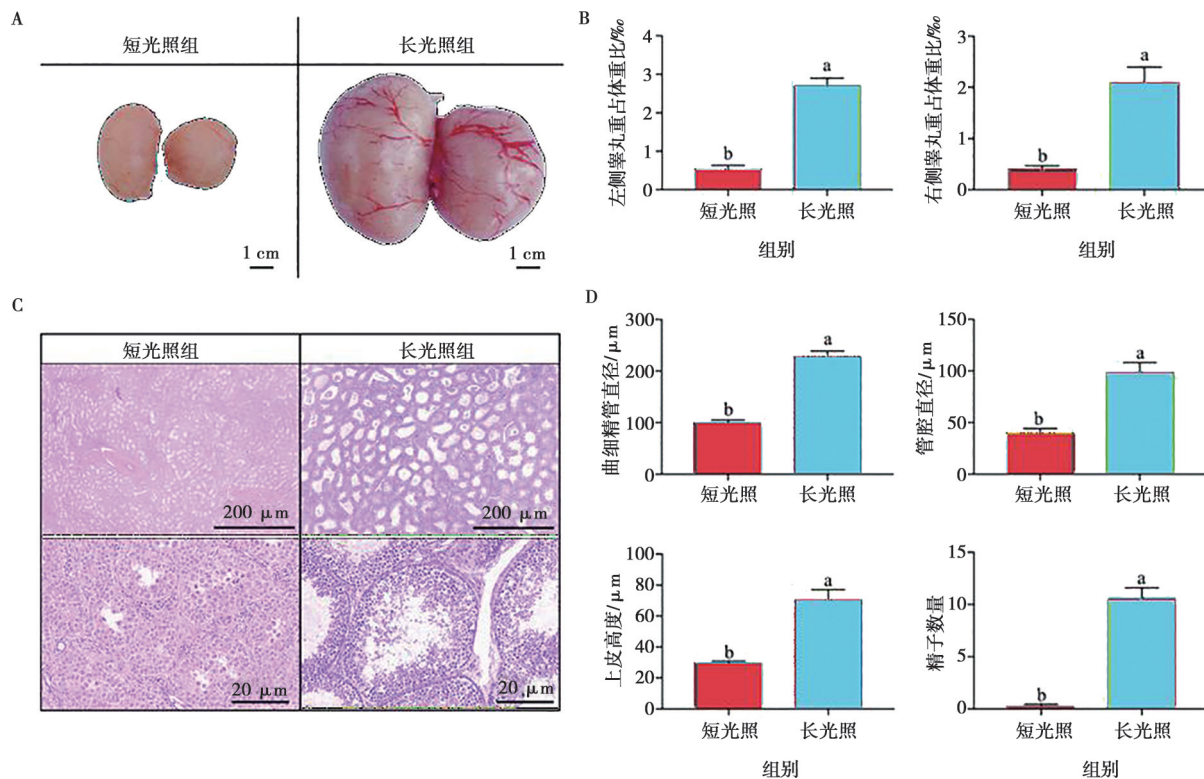
2 结果与分析

2.1 光周期对扬州鹅睾丸外观形态和组织结构的影响

从图 1 可知，短光照组扬州鹅两侧睾丸较小，随着光照时间的延长，睾丸体积逐渐增大 (图 1A)；两侧睾丸相对重均显著增加 ($P < 0.05$) (图 1B)。短光照组曲细精管内没有成熟精子，长光照组曲细精管

中已有大量的成熟精子 (图 1C), 曲细精管直径、上皮高度、管腔直径、精子数量均有显著升高 ($P <$

0.05) (图 1D)。



A. 扬州鹅睾丸外观形态; B. 扬州鹅睾丸与体重的比值; C. 扬州鹅睾丸组织结构; D. 扬州鹅睾丸曲细精管直径、管腔直径、上皮高度以及精子数量的变化。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

图 1 光照对扬州鹅睾丸外观和组织结构的影响

2.2 光周期对扬州鹅血液生化指标的影响

从表 2 可见, 与短光照组相比, 长光照组扬州鹅血液中 TBIL 含量显著降低 ($P < 0.05$), 其他血液生化指标无明显差异 ($P > 0.05$)。

表 2 扬州鹅血清生化指标的测定

项目	短光照组	长光照组
ALT/ ($U \cdot L^{-1}$)	17.33±0.33	17.75±0.85
AST/ ($U \cdot L^{-1}$)	121.0±42.42	89.4±19.74
TP/ ($g \cdot L^{-1}$)	61.28±3.34	57.28±5.36
ALB/ ($g \cdot L^{-1}$)	13.32±0.82	13.24±1.08
TBIL/ ($\mu mol \cdot L^{-1}$)	6.07±2.11 ^a	0.90±0.28 ^b
P/ ($mg \cdot dL^{-1}$)	1.63±0.16	1.38±0.13
CHOL/ ($mmol \cdot L^{-1}$)	4.00±0.28	3.89±0.58
TG/ ($mmol \cdot L^{-1}$)	1.73±0.20	1.69±0.25
CK/ ($U \cdot L^{-1}$)	980.40±453.48	455.0±95.11
LDH/ ($U \cdot L^{-1}$)	642.0±164.76	445.25±81.90
GLOB/ ($g \cdot L^{-1}$)	47.96±2.62	44.04±4.30

注: 同行数据不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

2.3 激素检测

由图 2 可知, 长光照组扬州鹅血液中 T、FSH 和 LH 浓度均显著高于短光照组 ($P < 0.05$)。

2.4 基因组比对

使用 HISAT2 将各样品的 Clean reads 与参考基因组 (GCF_000971095.1) 进行序列比对。通常情况下, 如果参考基因组选择合适, 而且相关试验不存在污染, 试验所产生的测序序列的 mapping 率通常会高于 65%。本试验在保证参考基因组质量的前提下, RNA-seq 数据和参考基因组序列的比较, 比对到参考基因组唯一位点的比例为 80% 以上, 总比对率大于 82%, 表明试验的理论值与测定值吻合良好, 结果可用于后续分析 (表 3)。

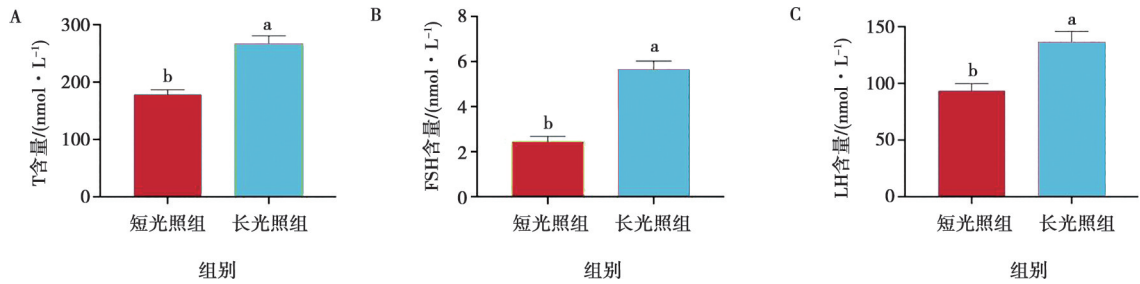


图2 光周期对扬州鹅血液中激素水平的影响

表3 参考基因组对比

样品	Total	Unmapped/%	Unique_Mapped/%	Multiple_Mapped/%	Total_Mapped /%
短光照-1	56 690 890	15.76	82.39	1.86	84.24
短光照-2	38 014 968	17.51	80.38	2.10	82.49
短光照-3	37 260 940	17.15	81.26	1.59	82.85
长光照-1	56 670 358	14.32	84.14	1.55	85.68
长光照-2	58 030 578	14.54	84.09	1.36	85.46
长光照-3	69 328 104	14.33	84.19	1.48	85.67

注: Total 为过滤核糖体后 reads 数量; Unmapped 为未比对上参考基因组的 reads 数及占有有效 reads 比例; Unique Mapped 为唯一比对上参考基因组的 reads 数及占有有效 reads 比例; Multiple Mapped 为多处比对上参考基因组的 reads 数及占有有效 reads 比例; Total Mapped 为全部的可以定位到基因组上的 reads 数量及占有有效 reads 比例, $n=3$ 。

2.5 RNA-seq 数据分析

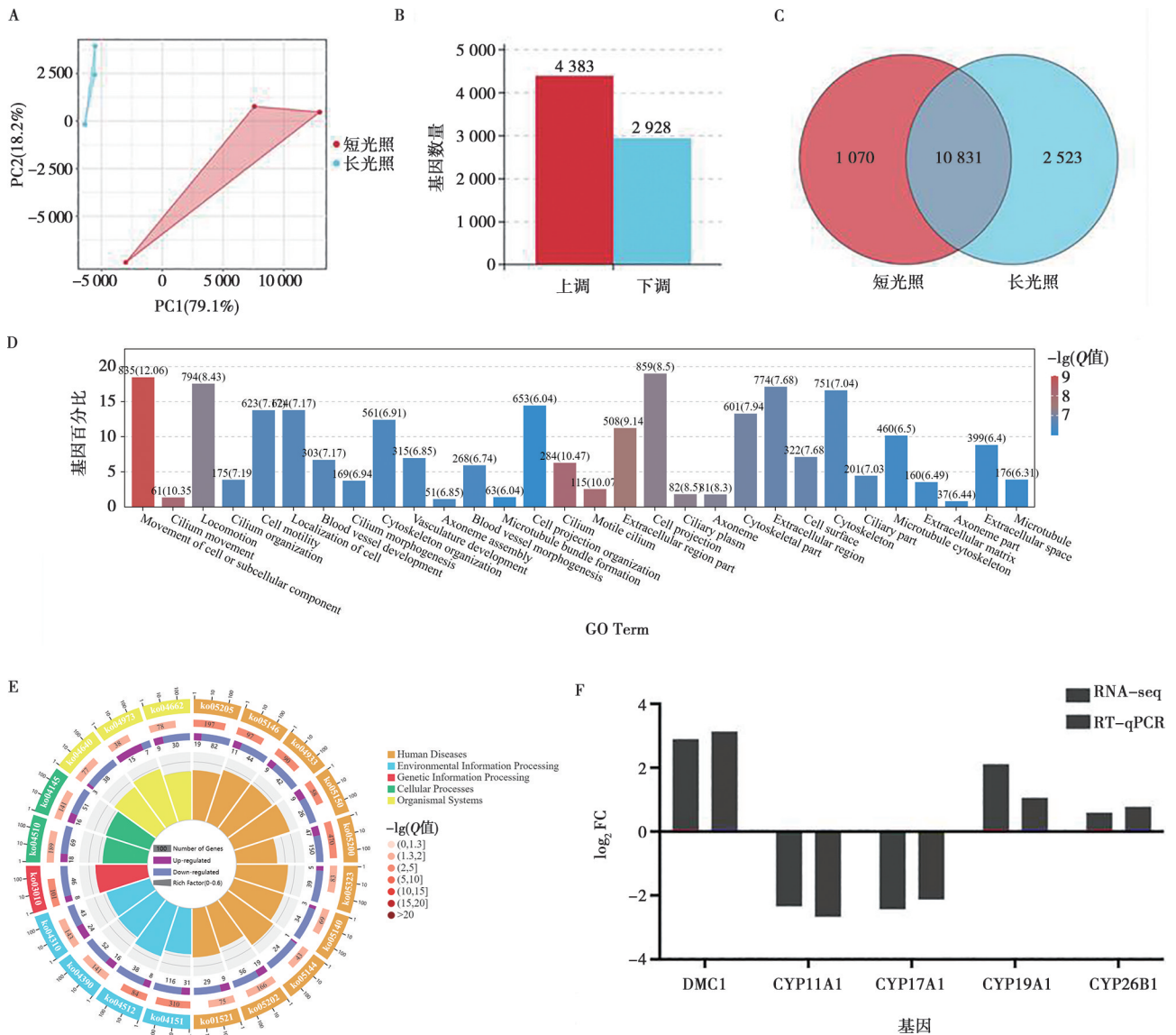
基于基因表达量信息,进行主成分分析。在分析结果中,样品越相似,则PCA图上样品的距离越近;而来自不同有效处理的样品通常距离较远。如图3A所示,短光照组和长光照组的样品明显区分开来。筛选 $FDR < 0.05$, 且 $|\log_2 FC| > 1$ 的基因为显著差异基因,长光照组与短光照组相比,表达上调的基因有4383个,表达下调的基因有2928个(图3B);短光照组有1070个特有基因,长光照组有2423个特有基因(图3C)。

基因本体论(GO)是基因本体论联合会建立的数据库,此数据库可以对选择的基因集中的基因进行分类:参与的生物学过程、构成细胞的组分,实现的分子功能等。如图3D所示,可以看到短光照组和长光照组相比,其差异基因主要集中在纤毛(Cilium)、纤毛运动(Cilium movement)、胞外区部分(Extracellular region part)、细胞外空间(Extracellular re-

gion)、轴突(Axoneme)、运动纤毛(Motile cilium)、纤毛质(Ciliary plasm)、细胞或亚细胞成分的运动(Movement of cell or subcellular component)等。

京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)是系统分析基因功能、联系基因组信息和功能信息的知识库。利用KEGG数据库,可将基因集中的基因按照参与的通路或行使的功能进行分类。对睾丸组织的差异基因进行KEGG注释分析发现,短光照组与长光照组相比,差异基因功能主要富集于Ko04512(细胞外基质与细胞表面受体之间的相互作用)、Ko04151(PI3K-AKT信号通路)、Ko03010(核糖体)等(图3E)。

为了验证RNA-seq结果的准确性,在睾丸组织中选取了5个差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),采用RT-qPCR方法进行验证,结果表明,RNA-seq结果是高度可信和可重复的(图3F)。



A. 样本主成分分析图; B. 差异基因统计 (长光照 vs 短光照); C. 各光照差异韦恩图; D. 各光照的差异基因的 GO 富集分析; E. 各光照的差异基因的 KEGG 富集分析; F. 差异表达基因 RT-qPCR 验证 ($n=3$)。

图 3 RNA-seq 数据分析及验证

3 讨论

光照能够影响动物的季节性性行为。在春夏季节，随着日照时间的增长和温度的升高，长日照动物会进行配种；而在秋冬季节，随着日照时间的减少和温度的降低，短日照动物则会进行配种。禽类是典型的季节性繁殖动物，调整光照时间可以有效地调控其繁殖行为。例如，在日本鹌鹑试验中，当光照时间大于 11.5 h 可以促进睾丸的生长，而少于 11.5 h 的光照时间则无法促进睾丸的生长^[12]。本试验中，光照时间由 6.5 h 延长至 11.5 h 后，发现扬州鹅的左右两侧睾丸体重比均显著增加，与以上研究一致。

睾丸的曲细精管在精子生成中扮演着重要角色。

在性成熟时，曲细精管产生精子，随着性成熟的到来，左侧睾丸相对于右侧睾丸呈现出略微增长的趋势，在性活动频繁的时期，两侧睾丸可能会经历一段时间的轻微增大^[13]。睾丸中的一部分生精干细胞会不断自我复制，而另一部分则会分化成精原细胞，并最终经历复杂的分裂过程，形成成熟的精子。睾酮是包括鹅在内的雄性禽鸟体内重要的性激素，睾酮不仅可以刺激雄性动物生殖器官发育，还可以维持其性功能；同时，睾酮可以维持雄性的第二性征，促进精子的生成、发育和成熟^[14]。睾酮浓度在繁殖季节保持较高水平，这对于滋养生精小管中生殖细胞（精原细胞、精母细胞和精子细胞）的发育极其重要。在本试验中，长光照组扬州鹅血液中 T 含量均显著高

于短光照组,同时,HE染色观察到长光照组有大量成熟的精子存在,长光照组曲细精管直径、上皮高度、管腔直径、精子数量均显著增加。有研究发现随着光周期的延长,生精小管面积和精子数显著增加,这与延长光周期促进性腺发育的作用相一致^[15]。本试验表明,适宜的光照条件可以促使扬州鹅进入繁殖期,公鹅表现为睾丸外观和内部结构的变化,再次证明光周期影响睾丸发育^[16-17]。

RNA-seq技术能够使用少量的样品,达到对送检样品细胞或者组织内所有转录产物的检测^[18]。通过对两个或两个以上样本的RNA-Seq分析,能够获得试验处理引起的差异基因集,对差异基因进行功能富集分析,可以获得变化的信号通路,通过一系列的生物信息学分析,能够更快、更准确地定位到关键候选基因、候选信号通路,为解析复杂生物学过程提供重要参考。本研究中,长光照组与短光照组相比,表达上调的基因有4 383个,表达下调的基因有2 928个,睾丸组织中差异基因主要富集于ECM受体互作、PI3K-AKT信号通路、核糖体等。PI3K/AKT信号通路是参与细胞增殖与凋亡调控的重要信号通路,PI3K不仅表现出丝氨酸和苏氨酸激酶的活性,还表现为磷脂酰肌醇激酶的活性。AKT在细胞的生长和发育过程中,例如在细胞增殖分化、凋亡、转录等,都扮演着不可或缺的角色,为其提供了必要的支持和保障^[19-20]。研究表明,PI3K/AKT信号通路参与雄性生殖功能的正常发挥和精子的发生过程,包括精子获能、顶体反应等过程/活化的PI3K磷酸化蛋白可激活PDK1,导致AKT激活,进而诱导顶体反应的发生^[21]。

研究表明,下丘脑释放的促性腺激素释放激素作用于垂体^[22],进而产生FSH和LH,作用于促卵泡激素受体(FSHR)和黄体生成素受体(LHR),从而促进输精管上皮细胞的发育和精原细胞的扩散,并分泌T,并协同促进精子成熟。其中,FSH作用于睾丸支持细胞,促进曲精细管的生长和分化,刺激精原细胞增殖。有研究表明FSH与其受体结合后,体内cAMP水平升高导致PI3K/AKT被激活^[23],从而激活mTOR,使4EBP1和P70S6激酶(S6K)磷酸化,产生核蛋白体蛋白S6,诱导低氧诱导性分子1(HIF1)表达,进一步产生LHR和血管内皮生长因子(VEGF)等,从而调控细胞的增殖分化^[24]。在本试验中,延长光照后扬州鹅血液中FSH、LH含量均显著上调;同时,短光照组与长光照组差异基因显著富集于PI3K-AKT信号通路,在此通路中显著变化的基因有G蛋白偶联受体(GPCR)、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)、蛋白激酶B(AKT)、周期蛋白依赖性

激酶抑制剂1A(p21)、周期蛋白依赖性激酶抑制剂1B(p27)、周期蛋白依赖性激酶(CDK)、血清和糖皮质激素调节激酶(SGK)、核糖体蛋白S6(S6)、环磷腺苷效应元件结合蛋白(CREB)等,与以上研究一致。

综上,延长光照后扬州鹅睾丸体积增大,曲细精管中有大量成熟精子,曲细精管直径、上皮高度、管腔直径、精子数量均显著上调;同时,扬州鹅血液中FSH、LH和T含量显著上调;FSH与其受体结合使睾丸组织中PI3K-AKT信号转导途径磷酸化,进而刺激细胞增殖和分化,从而促进睾丸细胞的生长和发育。

参考文献:

- [1] ZHU H X, LIU X Q, HU M D, et al. Endocrine and molecular regulation mechanisms of the reproductive system of Hungarian White geese investigated under two artificial photoperiodic programs [J]. *Theriogenology*, 2019, 123: 167-176.
- [2] 施振旦, 孙爱东. 鹅繁殖季节的调控和配套技术 [J]. *中国家禽*, 2011, 33 (18): 40-42.
- [3] BRÜNING A, HÖLKER F, FRANKE S, et al. Impact of different colours of artificial light at night on melatonin rhythm and gene expression of gonadotropins in European perch [J]. *Sci Total Environ*, 2016, 543 (Pt A): 214-222.
- [4] CHAURASIA S S, ROLLAG M D, JIANG G, et al. Molecular cloning, localization and circadian expression of chicken melanopsin (Opn4): differential regulation of expression in pineal and retinal cell types [J]. *J Neurochem*, 2005, 92 (1): 158-170.
- [5] DAVIES W I, TURTON M, PEIRSON S N, et al. Vertebrate ancient opsin photopigment spectra and the avian photoperiodic response [J]. *Biol Lett*, 2012, 8 (2): 291-294.
- [6] NAKANE Y, IKEGAMI K, ONO H, et al. A mammalian neural tissue opsin (Opsin 5) is a deep brain photoreceptor in birds [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107 (34): 15264-15268.
- [7] YOSHIMURA T. Thyroid hormone and seasonal regulation of reproduction [J]. *Front Neuroendocrinol*, 2013, 34 (3): 157-166.
- [8] NAKANE Y, YOSHIMURA T. Deep brain photoreceptors and a seasonal signal transduction cascade in birds [J]. *Cell Tissue Res*, 2010, 342 (3): 341-344.
- [9] BANERJEE S, CHATURVEDI C M. Apoptotic mechanism behind the testicular atrophy in photorefractory and scotosensitive quail: involvement of GnIH induced p-53 dependent Bax-Caspase-3 mediated pathway [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2017, 176: 124-135.
- [10] GILL D J, LEIGHTON A T Jr. Effects of light environment and population density on growth performance of male turkeys [J]. *Poult Sci*, 1984, 63 (7): 1314-1321.
- [11] CHANG S C, ZHUANG Z X, LIN M J, et al. Effects of monochromatic light sources on sex hormone levels in serum and on semen quality of ganders [J]. *Anim Reprod Sci*, 2016, 167: 96-102.
- [12] FOLLETT B K, MAUNG S L. Rate of testicular maturation, in relation to gonadotrophin and testosterone levels, in quail exposed to va-

- rious artificial photoperiods and to natural daylengths [J]. *J Endocrinol*, 1978, 78 (2): 267-280.
- [13] 金光明, 王珏, 王永荣, 等. 皖西白鹅公鹅生殖器官的解剖观察 [J]. *安徽农业技术师范学院学报*, 2000 (1): 25-28.
- [14] 锁云鹏, 李晓彤, 李延森, 等. 大约克公猪精液质量与粪便菌群的相关性分析 [J]. *南京农业大学学报*, 2024, 47 (1): 123-132.
- [15] SUN L, GUO L, WANG J, et al. Photoperiodic effect on the testicular transcriptome in broiler roosters [J]. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2020, 104 (3): 918-927.
- [16] GENG A L, ZHANG Y, ZHANG J, et al. Effects of lighting pattern and photoperiod on egg production and egg quality of a native chicken under free-range condition [J]. *Poult Sci*, 2018, 97 (7): 2378-2384.
- [17] VERMETTE C, SCHWEAN-LARDNER K, GOMIS S, et al. The impact of graded levels of daylength on turkey productivity to eighteen weeks of age [J]. *Poult Sci*, 2016, 95 (5): 985-996.
- [18] WANG Z, GERSTEIN M, SNYDER M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics [J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10 (1): 57-63.
- [19] MANNELLA P, BRINTON R D. Estrogen receptor protein interaction with phosphatidylinositol 3-kinase leads to activation of phosphorylated Akt and extracellular signal-regulated kinase 1/2 in the same population of cortical neurons: a unified mechanism of estrogen action [J]. *J Neurosci*, 2006, 26 (37): 9439-9447.
- [20] GE X, GUO R, QIAO Y, et al. The G protein-coupled receptor GPR30 mediates the nontranscriptional effect of estrogen on the activation of PI3K/Akt pathway in endometrial cancer cells [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2013, 23 (1): 52-59.
- [21] BREITBART H, ROTMAN T, RUBINSTEIN S, et al. Role and regulation of PI3K in sperm capacitation and the acrosome reaction [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2010, 314 (2): 234-238.
- [22] CHARLTON H. Hypothalamic control of anterior pituitary function: a history [J]. *J Neuroendocrinol*, 2008, 20 (6): 641-646.
- [23] 傅夏燕, 陈其臻, 尹喆, 等. 缺氧诱导因子-1 调控卵泡发育的研究进展 [J]. *同济大学学报 (医学版)*, 2021, 42 (1): 136-141.
- [24] ALAM H, WECK J, MAIZELS E, et al. Role of the phosphatidylinositol-3-kinase and extracellular regulated kinase pathways in the induction of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 activity and the HIF-1 target vascular endothelial growth factor in ovarian granulosa cells in response to follicle-stimulating hormone [J]. *Endocrinology*, 2009, 150 (2): 915-928.