

董桂花, 张国庆, 吴伟伟, 等. 患病绵羊肺组织关键病原微生物宏基因组解析与谱系特征研究 [J]. 畜牧与兽医, 2026, 58 (5): 82-88.
DONG G H, ZHANG G Q, WU W W, et al. Metagenomic analysis and lineage characteristic study of key pathogenic microorganisms in lung tissues from diseased sheep [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2026, 58 (5): 82-88.

患病绵羊肺组织关键病原微生物宏基因组解析与谱系特征研究

董桂花¹, 张国庆², 吴伟伟², 哈尼克孜·吐拉甫², 王博¹, 刘玲玲^{1*}

(1. 新疆农业大学动物科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052;

2. 新疆畜牧科学院畜牧研究所, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要: 旨在解析绵羊感染性呼吸系统疾病的病原微生物, 探讨绵羊品种与微生物同源基因组表达的关系, 为绵羊抗病育种及高效生产奠定基础。选取同一饲养环境下 180 日龄的澳杜湖三元杂交羊 36 只和多浪羊 25 只, 采集其肺组织样品共 61 份, 采用宏基因组学技术分析肺组织微生物群落组成, 结合 PCR 扩增技术鉴定主要病原微生物, 同时检测促炎细胞因子表达情况, 分析不同品种绵羊微生物同源基因组表达差异。结果: 共鉴定出 13 种绵羊肺组织关键呼吸系统微生物; PCR 扩增结果证实, 绵羊肺腺瘤病毒是该群体绵羊肺组织的主要病原微生物; 同源基因组表达分析表明, 澳杜湖三元杂交羊微生物同源基因组能量主要用于 RNA 加工和修饰, 多浪羊微生物同源基因组能量主要用于碳水化合物、次生代谢物的运输与代谢及防御机制; 促炎细胞因子检测结果显示, 2 个品种绵羊在基因表达和能量分配上存在明显差异。相关性分析表明, 绵羊品种与肺组织微生物功能表达之间存在高度的相关性。结论: 绵羊肺腺瘤病毒是该群体绵羊感染性呼吸系统疾病的主要致病微生物, 澳杜湖三元杂交羊与多浪羊的微生物同源基因组表达存在品种特异性, 绵羊品种与肺组织微生物功能表达密切相关。

关键词: 绵羊; 肺组织微生物; 宏基因组; 呼吸系统疾病

中图分类号: S826.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2026)05-0082-07

Metagenomic analysis and lineage characteristic study of key pathogenic microorganisms in lung tissues from diseased sheep

DONG Guihua¹, ZHANG Guoqing², WU Weiwei², Hanikzi · Tulafu², WANG Bo¹, LIU Lingling^{1*}

(1. College of Animal Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;

2. Institute of Animal Husbandry, Xinjiang Academy of Animal Husbandry, Urumqi 830000, China)

Abstract: This study aimed to characterize pathogenic microorganisms causing infectious respiratory diseases in sheep, to investigate the relationship between sheep breeds and microbial homologous genomic expression, and to lay a foundation for disease-resistant breeding and efficient production in sheep. Thirty-six 180-day-old Australian Dorper-Lambeth crossbred sheep and 25 Molang sheep, reared under identical conditions, were selected. A total of 61 lung tissue samples were collected from the sheep. Then, metagenomic techniques were employed to analyze the microbial community composition within the lung tissues. Next, PCR amplification techniques were used to identify major pathogenic microorganisms. Concurrently, pro-inflammatory cytokine expression was measured to analyze differences in microbial homologous genome expression between the sheep breeds. The results showed that thirteen key respiratory system microorganisms were identified in the sheep lung tissue. The PCR amplification confirmed sheep lung adenovirus as the primary pathogenic microorganism in this population. The homologous genome expression analysis indicated that the microbial homologous genome energy in Australian Dorper sheep was primarily allocated to RNA processing and modification, whereas in Duolang sheep, it was mainly directed towards carbohydrate metabolism, transport and metabolism of secondary metabolites, and defense mechanisms. The pro-inflammatory cytokine detection revealed significant differences in gene expression and energy allocation between the two sheep breeds. The correlation analysis exhibited a high degree of association between sheep breed and functional expression of lung tissue microbiota. In conclusion, sheep lung adenovirus constituted the primary pathogenic

收稿日期: 2025-05-09; 修回日期: 2026-03-04

基金项目: 国家科技重大专项 (2023ZD0405103, 2022ZD040130205); 自治区现代产业技术体系项目 (xjARS-09-06); 省部共建草食家畜遗传改良与种质创新国家重点实验室项目

第一作者: 董桂花, 女, 藏族, 硕士研究生

* 通信作者: 刘玲玲, 博士, 副教授, 博导, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: 673834944@qq.com。

microorganism responsible for infectious respiratory diseases within this sheep population. Microbial homologous genome expression exhibited breed specificity between Australian Dorper and Duolang sheep, with sheep breed being closely associated with functional expression of lung tissue microbiota.

Keywords: sheep; lung tissue microorganisms; meta-genomes; respiratory system diseases

现代家畜生理病理学研究发现, 传染病原体的毒力可经由多物种间的协同作用进行调节^[1-2]。因此, 对于疾病复合体的研究, 一个重要的发现是宿主与寄居于宿主体内或周围众多其他微生物及病原体之间的相互作用^[3-4]。

近年来, 诸多研究致力于应用先进的微生物组测序技术于动物疾病的诊断, 尤其关注呼吸系统相关疾病^[5]。血清学检测与 PCR 鉴定等靶向方法依赖预设候选病原体, 难以应对多病原混合感染及新发病原体的检测需求, 导致诊断灵敏度受限且易漏诊^[6]。宏基因组测序技术依托无偏倚性核酸捕获策略, 可全面获取样本中全部微生物遗传信息, 突破传统检测依赖已知病原预设的技术局限, 实现细菌、病毒、真菌、寄生虫及病原体的同步、广谱鉴定^[7]。无需预设目标微生物。传统诊断耗时长, 而宏基因组可在单次检测中提供全面病原体信息, 加速治疗。

宏基因组测序技术在解析由细菌、病毒、真菌及寄生虫等多元病原体构成的复杂互作网络及其致病机制方面展现出显著的应用潜力^[8]。本研究创新性地运用该技术, 首次对新疆地方绵羊品种与多元杂交品种的肺部微生物功能差异进行了深度对比解析, 系统表征其群落装配规律, 并对不同品种绵羊肺组织基因功能表达情况进行研究。研究旨在深化对自然状态下绵羊肺组织微生物群落构成的认识, 并为绵羊肺组织基因功能结构的研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样本来源

本研究以来自新疆阿克苏地区某发生绵羊呼吸道传染病的羊场同一饲养环境条件下的 180 日龄 36 只澳杜湖三元杂交羊 (澳杜湖羊) 和 25 只多浪羊为研究对象, 该群体主要出现咳嗽、呼吸困难、浆液性鼻液分泌增多等临床症状, 初步判断病因为呼吸道病原微生物感染。采集肺组织样品, 进行宏基因组测序, 测序数据量 12 Gb。

1.2 主要试剂

土壤 DNA 试剂盒购自玛根生物科技 (广州) 有限公司; VAHTSTM Universal DNA Library Prep Kit for Illumina[®] V3 文库构建试剂盒购自南京诺唯赞生物科技有限公司; AMPure XP 核酸纯化试剂盒购自贝克曼库尔特生命科学事业部; Qubit[™] dsDNA 定量试剂

盒购自赛默飞世尔科技公司; Agilent DNA 1000 试剂盒购自安捷伦科技 (中国) 有限公司。

1.3 宏基因组文库的制备和测序

从病变与正常组织交界处取肺组织, 于液氮中保存。对 36 只澳杜湖羊和 25 只多浪羊的肺组织样本进行宏基因组测序。具体流程如下: 使用 DNA 抽提试剂盒提取肺组织基因组 DNA, 并通过琼脂糖凝胶电泳仪 NanoDrop 2000 测定 DNA 浓度。在 Covaris 管中对 DNA 样品进行超声片段化处理, 并以 Agencourt AMPure XP beads 进行纯化。利用 TruSeq Nano DNA LT Sample Preparation Kit 构建测序文库, 由上海欧易生物医学科技有限公司完成建库测序。

1.4 宏基因组数据分析方法

采用 Fastp (版本 0.23.4) 对测序数据执行质量控制程序, 随后通过 KneadData (版本 0.12.0) 流程整合 Bowtie2 (版本 2.5.1) 工具, 与绵羊参考基因组 (Genome assembly ARS-UI-Ramb_v2.0) 进行比对分析, 以排除测序数据中的宿主基因组序列^[9-11]。进一步使用 Bedtools (版本 2.31.0) 将 bam 格式文件转换为其他分析软件兼容的 fastq 格式。采用 Kraken2 (版本 1.1.1) 对数据进行基于读段的物种分类注释。针对与绵羊呼吸道相关的病原微生物, 在物种水平上执行了相对丰度差异分析。采用 R4.3.1 软件执行 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 作为判定差异显著性的标准。当 $0.05 \leq P < 0.10$ 时, 差异被认为具有显著性趋势。为了深入探究感染绵羊肺组织基因功能结构, 利用 eggNOG 数据库对微生物基因进行了功能注释。首先, 应用 Megahit (版本 1.2.9) 软件对 fastq 文件进行无参考基因组的组装, 随后依据组装后最大组装长度、所有 contig 的总长度、组装基因组的 GC 含量以及 N50、N90 等参数综合评估组装质量。利用 Prodigal (版本 2.6.3) 对组装好的基因组进行基因预测^[12-13]。为降低数据复杂度并提升分析的精确性, 采用 CD-hit (版本 4.8.1) 软件对预测基因组数据执行去重处理^[14-15]。在去重过程中, 当 2 个基因序列的相似度达到或超过 95%, 且较短序列至少覆盖较长序列的 90% 时, 这些基因被视为冗余, 并在后续分析中予以剔除。利用 Salmon (版本 0.14.1) 软件对预测基因进行定量分析, 首先基于非冗余基因集构建索引, 然后将该索引与 fastq 文件进行比对^[16]。比对完成后, 合并各文件的分析结果, 最终获得所有基

因的每百万转录本的转录本数。

1.5 PCR 鉴定

依据 GenBank 中绵羊肺腺瘤病毒 (JSRV) (登录号: NC001494) GAG 基因序列, 设计并合成 PCR 引物: GAG-R (5'-CACGCATAGTCGTCAGTTGTT-3') 和 GAG-F (5'-ATACTGTATAGGAGGTGGCAC-3')。取病变与健康组织交界处肺组织, 使用血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒 (DP304) 提取基因组 DNA, 并参照文献 [17] 的 PCR 体系和扩增程序进行扩增。

1.6 肺组织促炎性细胞因子检测

取发病绵羊肺组织, 使用 Genefist 总 RNA 提取

试剂盒 (GF2501) 提取基因组 RNA, 合成的 cDNA 样品进行实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 测定。本试验所用的引物参照文献 [18], 并委托生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成引物。引物详见表 1。

PCR 反应体系 (20 μL): Universal SYBR Green qPCR Mix 10 μL, 正向引物 0.6 μL, 反向引物 0.6 μL, ddH₂O 6.8 μL, cDNA 2 μL。

PCR 反应条件: 95 °C 预变性 30 min; 95 °C 10 s, 60 °C 10 s, 72 °C 30 s, 40 个循环; 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

基因	引物序列 (5'→3')	退火温度/°C	产物长度/bp
GAPDH	F: GCGATACTCACTCTTCTACTTTTGA	60	82
	R: TCGTACCAGGAAATGAGCTTGAC		
IL-1β	F: TCCACCTCCTCTCACAGGAAA	60	99
	R: TACCCAAGGCCACAGGAATCT		
TNF-α	F: GCACCTCGGGTAATCGGC	61	192
	R: GCCTTGAGGGCATTGGCAT		

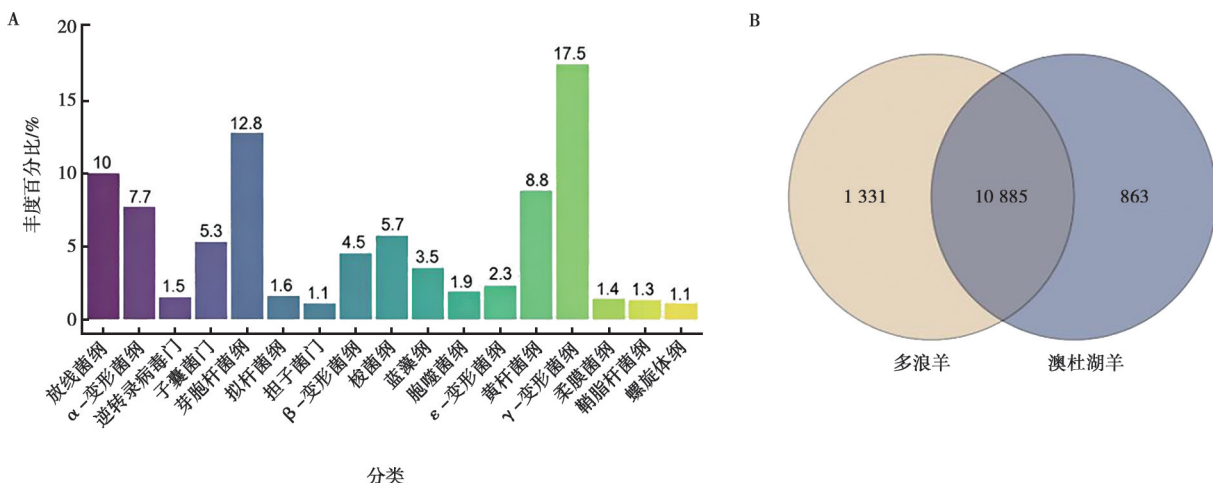
2 结果与分析

2.1 宏基因组测序分析

2.1.1 绵羊肺组织微生物组成

通过宏基因组分析绵羊肺部病变区域的主要微生物组成。丰度前 5 的依次为 γ-变形菌纲 (Gammaproteobacteria) 17.5%, 芽胞杆菌纲 (Bacilli) 12.8%,

放线菌纲 (Actinomycetes) 10%, 黄杆菌纲 (Flavobacteriia) 8.8%, 和 α-变形菌纲 (Alphaproteobacteria) 7.7%, 而担子菌门 (Basidiomycota) 和螺旋体纲 (Spirochaetia) 相对丰度最低 (1.1%) (图 1A)。澳杜湖羊和多浪羊肺组织微生物组成具有高度相似性 (图 1B)。



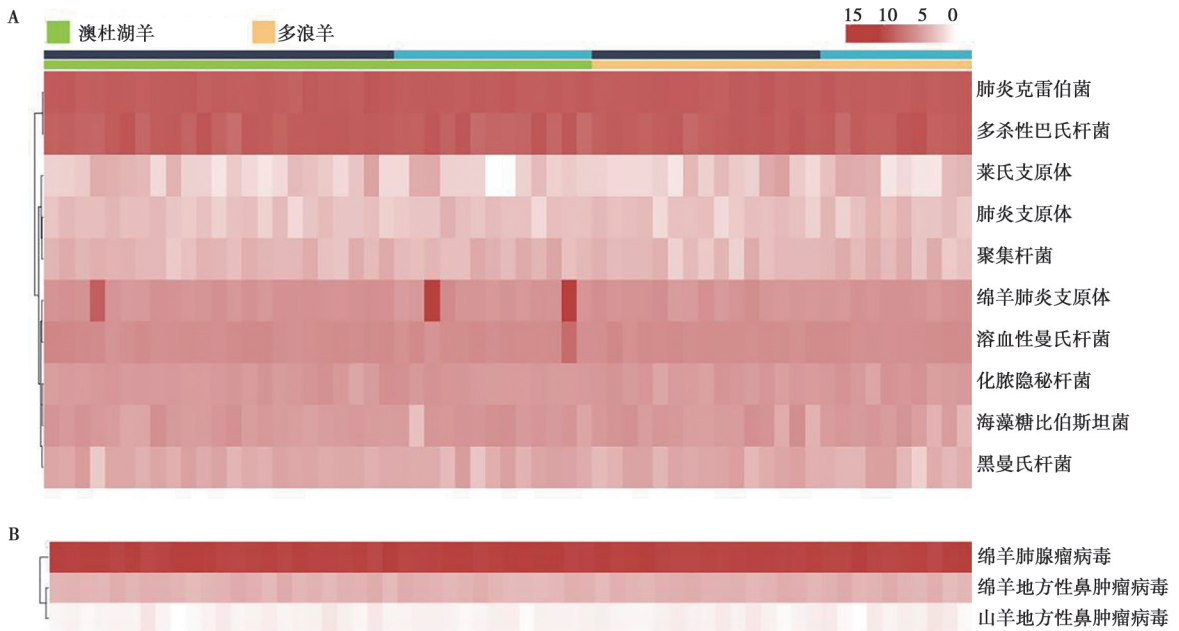
A. 纲水平上的分布比例; B. 微生物数量比较。

图 1 绵羊肺组织中微生物群落的分布情况

2.1.2 种水平的肺组织致病微生物

从2种绵羊肺组织中共鉴定到13种主要病原。丰度排名前3的致病菌为肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、多杀性巴氏杆菌 (*Pasteurella multocida*) 和溶血性曼氏杆菌 (*Mannheimia haemolyt-*

ica) (图2A); 主要病毒包括 JSRV、绵羊地方性鼻肿瘤病毒 (ovine enzootic nasal tumor virus) 和山羊地方性鼻肿瘤病毒 (enzootic nasal tumour virus of goats) (图2B)。绵羊肺腺瘤病毒的丰度显著高于其他病原。



A. 致病菌; B. 病毒。

图2 感染绵羊肺组织主要致病微生物丰度热图

2.1.3 肺组织直系同源基因组表达情况

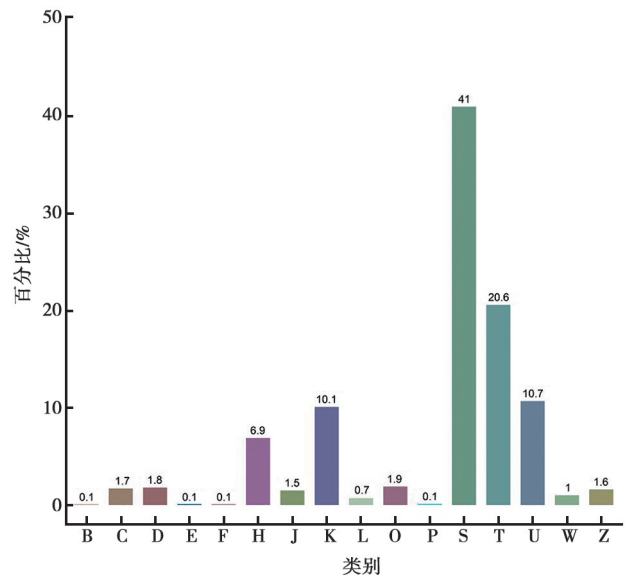
对绵羊肺组织成功注释了3 170个基因, 并对每个基因所属的直系同源基因组进行了分类, 共分为22个类别。各直系同源基因组功能分配如图3所示, 功能未知41%, 信号转导机制20.6%, 细胞内运输、分泌与囊泡运输10.7%, 转录10.1%, 辅酶运输和代谢6.9%。进一步对比2个品种发现, 澳杜湖羊将更多能量用于RNA加工和修饰, 而多浪羊在碳水化合物和次生代谢物的运输和代谢上更为活跃, 并将更多能量用于防御机制(图4)。

2.2 肺组织 JSRV 感染的 PCR 鉴定

利用所设计的 GAG 基因特异性引物, 从感染绵羊肺组织提取的基因组 DNA 中扩增到约 1 843 bp 条带, 与预期大小一致, 阴性对照无扩增条带(图5)。

2.3 肺组织促炎细胞因子检测

用 RT-qPCR 对感染绵羊肺组织进行促炎细胞因子的检测, 结果显示(图6), IL-1 β 和 TNF- α mRNA 表达水平在澳杜湖羊与多浪羊绵羊肺组织中均无显著差异 ($P>0.05$)。



B. 染色质结构和动态; C. 能量产生和转换; D. 细胞周期控制, 细胞分裂, 染色体分裂; E. 氨基酸运输和代谢; F. 核苷酸运输和代谢; H. 辅酶运输和代谢; J. 翻译, 核糖体结构和生物合成; K. 转录; L. 复制, 重组和修复; O. 翻译后修饰, 蛋白质周转, 分子伴侣; P. 无机离子运输和代谢; S. 功能未知; T. 信号转导机制; U. 细胞内运输, 分泌和囊泡运输; W. 胞外结构; Z. 细胞骨架。

图3 绵羊肺组织中直系同源基因组相对丰度表达情况

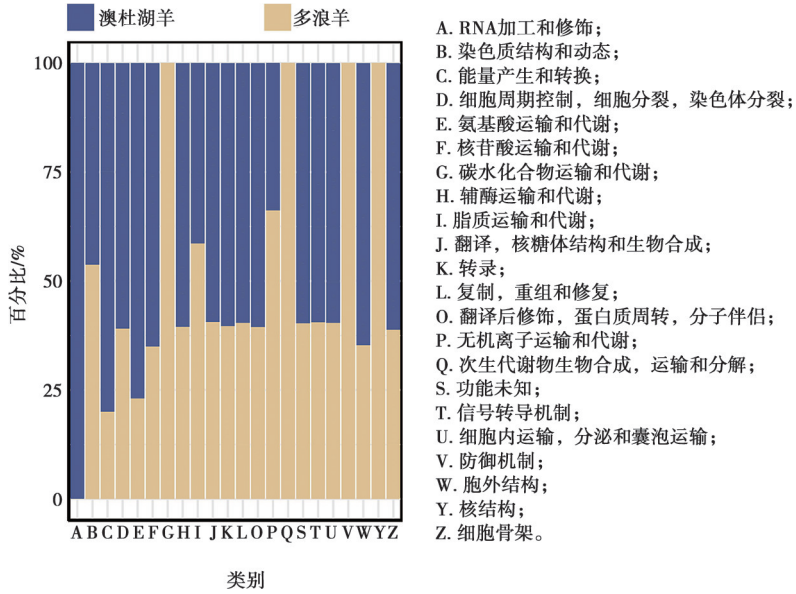
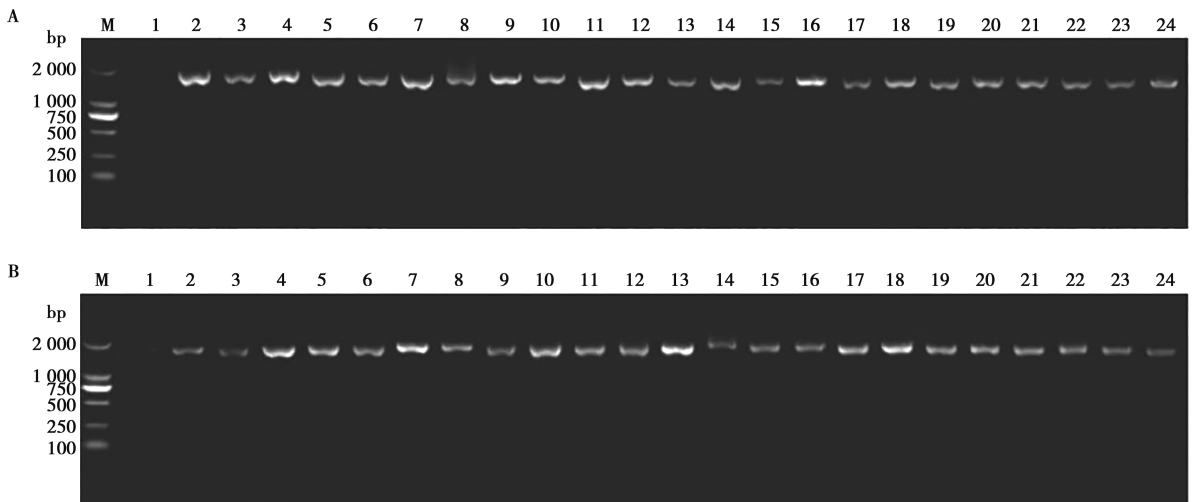


图 4 澳杜湖羊和多浪羊肺组织中直系同源基因组相对丰度表达情况差异比较



M. DNA Marker 2000; 1. 无模板对照; 2~24. 肺组织提取目的基因 PCR 产物。

图 5 澳杜湖羊 (A) 和多浪羊 (B) GAG 基因 PCR 扩增

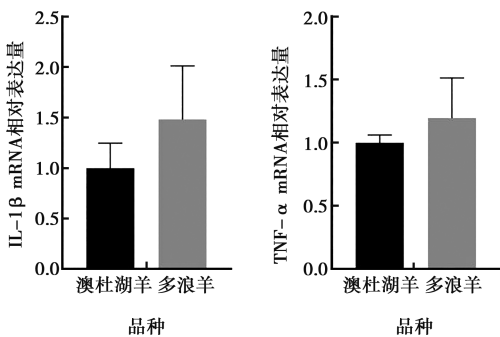


图 6 肺组织促炎细胞因子 RT-qPCR 检测

3 讨论

随着集约化养殖的推广，绵羊呼吸系统疾病的发病率显著上升，且病原种类呈现多样化趋势^[19]。目前，关于绵羊肺部微生物群的宏基因组测序研究较少。本研究系统分析了澳杜湖三元杂交羊和多浪羊的肺部微生物群落及基因功能结构，以增进对绵羊呼吸道微生物群的理解，并为相关基因功能研究提供参考。

随着养羊业的发展，抗病育种已经成为研究热点。我国地方绵羊品种资源丰富，高抗病力是其重要特性之一。研究发现，不同品种的绵羊对疾病的抗性

机制不同^[20]。多浪羊是新疆地区的著名本土品种,具有全年发情并且对各种疾病的强烈抵抗力的特性^[21]。而施会彬等^[22]研究发现澳杜湖羊具有良好的改良效果和明显的杂种优势,具有较强的抗病力和适应性。对地方绵羊品种和多元杂交品种的抗病机理进行研究,可以为绵羊抗病性能的遗传改良提供基础,进而提高绵羊的生产力。

研究揭示,变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)以及拟杆菌门(Bacteroidetes)是绵羊肺组织中的主要菌群,这一结果与先前在人类及其他动物中的研究发现相一致^[23-25]。然而,这些菌群的丰度会随着肺部损伤程度的不同而有所差异^[26]。Miao等^[27]的研究表明,在健康与患病的肺组织中均能检测到通常分布于瘤胃的常见细菌。本研究亦观察到,一些通常存在于瘤胃环境中的菌种出现在肺部,这可能与反刍动物的反刍行为使得瘤胃菌群更易迁移到肺部有关^[28]。

对肺组织主要病原的分析揭示,澳杜湖羊与多浪羊在微生物多样性及丰度方面不存在显著统计学差异。这一结果可能归因于2种品种羊在相同的饲养环境下的共同暴露,这与O'Dwyer等^[29]研究一致。研究发现,尽管该群体的感染水平一致,但其病变程度存在显著差异。鉴于所有个体均处于相同的饲养环境,推测个体间免疫调控的差异可能是导致病变程度不同的主要因素。Charpentier等^[30]的研究亦指出,宿主的免疫状态对病原感染的最终结果具有显著影响,这一发现与Narayanan等^[31]关于病毒感染与宿主先天免疫关系的研究结论相吻合。

研究利用宏基因组鉴定出13种关键肺组织病原微生物,陈璐瑶等^[32]利用宏基因组从桃红岭梅花鹿粪便样品中共检测出潜在病原34属63种,其中肺炎克雷伯菌和多杀性巴氏杆菌在本研究中同样检测到,说明这2种病原微生物可感染多种动物。根据物种注释丰度分析结果,绵羊肺腺瘤病毒被鉴定为该群绵羊的主要致病因子。由于受感染绵羊体内缺乏绵羊肺腺瘤病毒特异性抗体,因此无法使用血清学检测感染^[33]。与核酸探针杂交技术相比,PCR技术特异性和重复性较好且操作简单,便于该病的早期快速诊断^[34]。本研究参考骆丹等^[17]建立的绵羊肺腺瘤病毒PCR检测方法,对宏基因组测序结果进一步验证,成功扩增出目标条带。宏基因组测序技术在动物疫病监测与疑难病原体快速鉴定领域展现出显著优势,为疾病诊断及流行病学调查提供了有力的技术支撑^[35]。

准确鉴定直系同源序列对于蛋白质功能的推断至关重要^[36]。依据分析结果,肺部微生物在信号传导、物质运输、转录等过程中显示出显著的能量消耗;澳

杜湖羊对RNA加工与修饰的高能量投入可能反映其对基因表达精准调控的需求。澳杜湖羊作为杂交品种可能存在杂种优势,但同时也可能面临基因表达不稳定的问题。需通过表观遗传调控或RNA修饰优化蛋白质合成效率,从而稳定基因表达,以适应快速生长或应对复杂病原压力^[37]。多浪羊在碳水化合物代谢及次生代谢物运输上的高表达,推测其肺微生物组可能通过发酵代谢为宿主提供能量或免疫调节分子^[38]。高表达的防御机制可能是由于在病原体压力的选择作用下,绵羊通过表观遗传记忆与微生物组的共同进化,形成了预存防御表型。

促炎细胞因子检测结果表明,在澳杜湖羊和多浪羊体内,促炎细胞因子的水平均有所升高,免疫应答上表现出相似的适应性。依据同源基因组表达分析,推测澳杜湖羊通过细胞内运输、分泌作用、囊泡运输以及信号转导途径对病原体进行抵抗。而多浪羊则通过增强与防御机制相关的基因功能,提升了其对病原体的抗性。

4 结论

本研究通过对绵羊呼吸系统疾病样本的肺组织进行深入分析,成功鉴定出13种关键的呼吸道病原微生物;通过对比分析澳杜湖羊与多浪羊肺组织中微生物同源基因组的表达情况,为抗病育种提供了参考,即:澳杜湖羊的RNA加工优势可导向基因治疗靶点的开发,而多浪羊的防御强化特征则具备抗病材料选育的价值。

参考文献:

- [1] TRAN Q T, GOMEZ G, KHARE S, et al. The *Salmonella enterica* serotype Typhi Vi capsular antigen is expressed after the bacterium enters the ileal mucosa [J]. *Infect Immun*, 2010, 78 (1): 527-535.
- [2] RONO M K, NYONDA M A, SIMAM J J, et al. Adaptation of *Plasmodium falciparum* to its transmission environment [J]. *Nat Ecol Evol*, 2018, 2 (2): 377-387.
- [3] KOVALEVA O V, ROMASHIN D, ZBOROVSKAYA I B, et al. Human lung microbiome on the way to cancer [J]. *J Immunol Res*, 2019, 2019: 1394191.
- [4] SINGH N, VATS A, SHARMA A, et al. The development of lower respiratory tract microbiome in mice [J]. *Microbiome*, 2017, 5 (1): 61.
- [5] 董建, 李真真, 刘紫霄. 支气管肺泡灌洗液病原体宏基因组二代测序在下呼吸道感染诊断中的应用价值 [J]. *临床误诊误治*, 2024, 37 (20): 54-59.
- [6] CALIENDO A M. Multiplex PCR and emerging technologies for the detection of respiratory pathogens [J]. *Clin Infect Dis*, 2011, 52 (suppl_4): S326-S330.

- [7] KALBITZ S, ERMISCH J, KELLNER N, et al. Metagenomic next-generation sequencing as a diagnostic tool in the clinical routine of an infectious diseases department: a retrospective cohort study [J]. *Infection*, 2024, 52 (4): 1595-1600.
- [8] LI N, CAI Q, MIAO Q, et al. High-throughput metagenomics for identification of pathogens in the clinical settings [J]. *Small Meth*, 2021, 5 (1): 2000792.
- [9] CHEN S. Ultrafast one-pass FASTQ data preprocessing, quality control, and deduplication using fastp [J]. *iMeta*, 2023, 2 (2): e107.
- [10] CHEN S, ZHOU Y, CHEN Y, et al. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor [J]. *Bioinformatics*, 2018, 34 (17): i884-i890.
- [11] LANGMEAD B, SALZBERG S L. Fast gapped-read alignment with bowtie 2 [J]. *Nat Methods*, 2012, 9 (4): 357-359.
- [12] HYATT D, CHEN G L, LOCASCIO P F, et al. Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification [J]. *BMC Bioinformatics*, 2010, 11: 119.
- [13] HYATT D, LOCASCIO P F, HAUSER L J, et al. Gene and translation initiation site prediction in metagenomic sequences [J]. *Bioinformatics*, 2012, 28 (17): 2223-2230.
- [14] LI W, GODZIK A. Cd-hit: a fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences [J]. *Bioinformatics*, 2006, 22 (13): 1658-1659.
- [15] FU L, NIU B, ZHU Z, et al. CD-HIT: accelerated for clustering the next-generation sequencing data [J]. *Bioinformatics*, 2012, 28 (23): 3150-3152.
- [16] MARKOLIN P, RÄTSCH G, KAHLES A. Identification, quantification, and testing of alternative splicing events from RNA-seq data using SplAdder [M] // Variant Calling. New York, NY: Springer US, 2022: 167-193.
- [17] 骆丹, 路义鑫, 徐义刚, 等. 绵羊肺腺瘤病毒实时荧光 PCR 检测方法的建立 [J]. *中国预防兽医学报*, 2013, 35 (6): 468-471.
- [18] 谷奎. IL-17 介导山羊传染性胸膜肺炎肺部病理损伤的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [19] 吴翠兰, 陶立, 李军, 等. 广西山羊感染性肺炎主要病原菌的分离鉴定及耐药性分析 [J]. *中国兽医学报*, 2023, 43 (11): 2261-2266.
- [20] CAO Y H, XU S S, SHEN M, et al. Historical introgression from wild relatives enhanced climatic adaptation and resistance to pneumonia in sheep [J]. *Mol Biol Evol*, 2021, 38 (3): 838-855.
- [21] CHANG W H, CUI Z L, WANG J H. Identification of potential disease biomarkers in the ovaries of dolang sheep from Xinjiang using transcriptomics and bioinformatics approaches [J]. *Indian J Anim Res*, 2020, 54 (9): 1-6.
- [22] 施会彬, 王玉琴, 吴至博, 等. 澳杜湖杂交绵羊生长发育性能及血液生理生化指标测定 [J]. *畜牧与兽医*, 2019, 51 (4): 1-6.
- [23] KOVALEVA O V, ROMASHIN D, ZBOROVSKAYA I B, et al. Human lung microbiome on the way to cancer [J]. *J Immunol Res*, 2019, 2019: 1394191.
- [24] SINGH N, VATS A, SHARMA A, et al. The development of lower respiratory tract microbiome in mice [J]. *Microbiome*, 2017, 5 (1): 61.
- [25] KLIMA C L, HOLMAN D B, RALSTON B J, et al. Lower respiratory tract microbiome and resistome of bovine respiratory disease mortalities [J]. *Microb Ecol*, 2019, 78 (2): 446-456.
- [26] ZHENG L, LIU C, WANG H, et al. Intact lung tissue and bronchoalveolar lavage fluid are both suitable for the evaluation of murine lung microbiome in acute lung injury [J]. *Microbiome*, 2024, 12 (1): 56.
- [27] MIAO Y, ZHAO X, LEI J, et al. Characterization of lung microbiomes in pneumonic hu sheep using culture technique and 16S rRNA gene sequencing [J]. *Animals*, 2023, 13 (17): 2763.
- [28] GLENDINNING L, COLLIE D, WRIGHT S, et al. Comparing microbiotas in the upper aerodigestive and lower respiratory tracts of lambs [J]. *Microbiome*, 2017, 5 (1): 145.
- [29] O'DWYER D N, DICKSON R P, MOORE B B. The lung microbiome, immunity, and the pathogenesis of chronic lung disease [J]. *J Immunol*, 2016, 196 (12): 4839-4847.
- [30] CHARPENTIER E, MÉNARD S, MARQUES C, et al. Immune response in *Pneumocystis* infections according to the host immune system status [J]. *J Fungi*, 2021, 7 (8): 625.
- [31] NARAYANAN K, RAMIREZ S I, LOKUGAMAGE K G, et al. Coronavirus nonstructural protein 1: common and distinct functions in the regulation of host and viral gene expression [J]. *Virus Res*, 2015, 202: 89-100.
- [32] 陈璐瑶, 黄晓凤, 张壹萱, 等. 基于宏基因组学的江西桃红岭梅花鹿潜在病原初步调查 [J]. *野生动物学报*, 2024, 45 (3): 504-512.
- [33] SUMMERS C, NORVAL M, DE LAS HERAS M, et al. An influx of macrophages is the predominant local immune response in ovine pulmonary adenocarcinoma [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2005, 106 (3/4): 285-294.
- [34] 敬晓棋, 萨如拉, 陈佳欣, 等. 绵羊肺腺瘤病及其诊断技术研究进展 [J]. *榆林学院学报*, 2025, 35 (2): 29-32.
- [35] JIANG H, XING Z, LIU X, et al. Comparison and development of a metagenomic next-generation sequencing protocol for combined detection of DNA and RNA pathogens in cerebrospinal fluid [J]. *BMC Infect Dis*, 2022, 22 (1): 326.
- [36] STAMBOULIAN M, GUERRERO R F, HAHN M W, et al. The ortholog conjecture revisited: the value of orthologs and paralogs in function prediction [J]. *Bioinformatics*, 2020, 36 (Supplement_1): i219-i226.
- [37] CHEN Z J. Genomic and epigenetic insights into the molecular bases of heterosis [J]. *Nat Rev Genet*, 2013, 14 (7): 471-482.
- [38] KRISHNAN S, DING Y, SAEDI N, et al. Gut microbiota-derived tryptophan metabolites modulate inflammatory response in hepatocytes and macrophages [J]. *Cell Rep*, 2018, 23 (4): 1099-1111.