

# 波纹龙虾全长转录组测序分析

梁妃爽, 梁华芳\*, 孙榕泽, 徐思行, 温崇庆, 王伟 (广东海洋大学水产学院, 广东湛江 524088)

**摘要** [目的]获得波纹龙虾丰富的转录组信息和功能基因。[方法]利用太平洋生物平台单分子实时测序技术,对波纹龙虾鳃、肝胰腺、肌肉、性腺、眼柄等组织混合进行全长转录组测序,获得波纹龙虾全长转录文库。[结果]单分子产出的高质量测序 reads 总量为 71.57 G,通过测序拼接和去冗余后共获得 10 425 个 Unigene,平均长度为 4 147 bp。使用 GO、NR、Pfam、NT、KEGG、SwissProt、KOG 等数据库对全长序列进行基因功能注释,其中 9 580 条序列得到 NR 数据库注释,分别比对到 358 个物种,其中与钩虾(*Hyalomma azteca*)基因相似的序列最多,为 3 865 个;有 7 585 条序列得到 GO 注释;KOG 功能注释将 7 436 条单基因簇分为 26 个功能组分,其中一般功能预测的最多,为 1 421 条;KEGG 注释结果发现,心肌细胞的肾上腺素能信号、病毒性心肌炎、心脏肌肉收缩中注释的基因较多,分别为 289、254 和 236 条。[结论]通过全长转录组测序数据分析及功能注释,为进一步了解波纹龙虾的生物学特性、基因功能、相关代谢途径和信号通路等提供理论基础,为后续研究提供参考文献。

**关键词** 波纹龙虾(*Panulirus homarus*);全长转录组;三代测序;功能注释

中图分类号 S917.4 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)14-0092-06

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.14.022



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

## Sequencing Analysis of Full-length Transcriptome of *Panulirus homarus*

LIANG Fei-shuang, LIANG Hua-fang, SUN Rong-ze et al (Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088)

**Abstract** [Objective] To obtain the rich transcriptome information and functional genes of the *Panulirus homarus*. [Method] This study used the Single-Molecule Real-Time sequencing technology of the PacBio platform to perform full-length transcriptome sequencing on mixed tissues of the *Panulirus homarus* gills, pancreas, muscles, gonads, and eyestalks. A full-length transcript library of *Panulirus homarus* was obtained. [Result] The total number of high-quality sequencing reads produced by a single molecule was 71.57 G. A total of 10 425 single gene clusters and 3 105 long-chain non-coding RNA sequences were obtained after sequencing and de-redundancy. Functional annotation of full-length sequences using NR, NT, SwissProt, Pfam, GO, KOG, KEGG, and other databases were done. 9 580 sequences of these were annotated in the NR database, compared to 358 species of which *Hyalomma azteca* had the most similar sequences at 3 865. 7 585 sequences have been annotated by GO. KOG functional annotation divided 7 436 single gene clusters into 26 functional components, of which the most general functional prediction was 1 421. KEGG annotation results found that the ADRENERGIC signal in the heart muscle cells pathways, viral myocarditis pathway and cardiac muscle contraction pathway have more annotated genes, thus 289, 254, and 236 respectively. [Conclusion] Through full-length transcriptome sequencing data analysis and functional annotation, a theoretical basis for further understanding of the biological characteristics, gene functions, related metabolic pathways, and signal pathways of the corrugated *Panulirus homarus* has been provided.

**Key words** *Panulirus homarus*; Full-length transcriptome; Third generation sequencing; Function annotation

转录组(Transcriptome)是指特定细胞或组织中的所有转录产物,包含信使 RNA、核糖体 RNA、转运 RNA 以及非编码 RNA<sup>[1]</sup>。1977 年,第 1 代 DNA 测序技术(Sanger 双脱氧链终止法)开始探索基因结构,但 Sanger 测序方法速度慢、通量低、成本高,难以满足大量测序要求,因此难以应用于组学测序研究<sup>[2]</sup>。第 2 代测序技术主要基于 Roche/454、ABI/Solid、Illumina/Solexa 测序平台<sup>[3]</sup>,有效解决了速度慢、成本高、通量低的问题,但是其读长短,拼接得到的转录本结构不完整。PacBio 平台单分子实时测序技术,也称为 SMRT(Single Molecule Real-Time)测序,因其超长的测序读长、超高的测序通量、无 GC 偏好性、无 PCR 扩增偏向性、直接检测碱基修饰等诸多优势而广泛应用于水产领域研究,为基因组学、转录组学及 DNA 甲基化等研究注入了新活力<sup>[4]</sup>。张金勇等<sup>[5]</sup>对金乌贼(*Sepia esculenta*)采用全长转录组测序,筛选 SSR 位点并分析出现频率较高且类型丰富、多态性潜能较高等特点。Zhang 等<sup>[6]</sup>利用三代测序技术筛选施氏鲟(*Acipenser schrenckii*)性腺中早期配子发生的相关基因,探讨了其生殖调控机制。Pootakham 等<sup>[7]</sup>利用三代测序技术对斑节对虾生

成第 1 个全长转录组。因此,利用三代测序技术对波纹龙虾全长转录组测序,分析环境因子相关胁迫差异基因,以期对相关功能基因的研究以及波纹龙虾养殖过程中水质调控和抗环境因子变化胁迫等提供理论支持和数据支撑。

波纹龙虾隶属于十足目(Decapoda)龙虾科(Palunoroidea)龙虾属(*Panulirus*),是我国沿海地区的重要经济种类,营养丰富,味道鲜美<sup>[8-9]</sup>。目前波纹龙虾基因组尚未测序完成,其基因序列信息比较匮乏,相关的分子遗传基础也很薄弱,分子生物学水平研究也较少,仅见李斌等<sup>[10]</sup>研究了波纹龙虾 C-型凝集素 PhLecA 的基因克隆与表达,Zhuo 等<sup>[11]</sup>研究了波纹龙虾蜕皮激素受体的分子克隆、特征和表达分析,罗嘉俊等<sup>[12]</sup>研究了波纹龙虾 GIH 基因克隆、表达及其对光周期的响应等。笔者采用三代测序技术的 PacBio 单分子实时测序平台对波纹龙虾(*Panulirus homarus*)进行全长转录组测序,通过生物信息学方法进行序列拼接、功能注释、分类和代谢通路分析,获取丰富的波纹龙虾序列信息,旨在为进一步挖掘波纹龙虾相关功能基因、基因组学及开发分子标记等研究奠定基础。

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料** 波纹龙虾为购自海南省琼海市青葛村,体质量为 21~57 g 的幼龙虾,采用干运法运回广东海洋大学东海

**作者简介** 梁妃爽(1994—),男,广东湛江人,硕士研究生,研究方向:甲壳动物遗传育种与增养殖。\*通信作者,教授,博士,从事甲壳动物遗传育种与增养殖研究。

**收稿日期** 2021-09-26; **修回日期** 2022-03-21

岛生物研究基地,在 20 m<sup>3</sup> 的水泥池中暂养,用黑色幕布遮光,24 h 不间断充气。试验海水来源于自然海区,盐度为 26‰~30‰,pH 为 8.1~8.3,每天换水 50%,投喂菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 等主要鲜活饵料,养殖 21 d 后开始试验。取正常条件养殖下波纹龙虾的肝胰腺、鳃、肌肉、性腺、眼柄和 80 mg/L 亚硝酸盐 (NaNO<sub>2</sub>) 胁迫 7 d 的肝胰腺 (做 3+2 项目,取亚硝酸盐胁迫混合作全长转录组,主要是为了进行二代测序时方便筛选差异基因用于后续试验),迅速放入 RNAlater 中保存,后用干冰保存寄往北京诺禾致源科技股份有限公司进行 RNA 提取和相关测序。

**1.2 RNA 提取与质控** 利用 Trizol 法分别对建库及定量试验所用的波纹龙虾组织进行 RNA 提取,使用 1% 琼脂糖凝胶电泳分析 RNA 纯度和完整性,Agilent 2100 软件准确检测

RNA 完整性,用 Qubit 2.0 软件精确定量 RNA 浓度,Nanodrop 软件检测 RNA 纯度,并选择符合测序标准的 RNA 等量混合用于文库建设。混合后的 RNA 样品纯度和完整性:6 例混样的 Qubit 浓度为 112 μL,Qubit 体积为 39 μL,Qubit 总量为 4.368 μg,样品纯度 A<sub>260/280</sub> 1.949,A<sub>260/230</sub> 1.303,Nano 浓度为 236.417 ng/μL,RIN 值为 3.8,NC/QC 为 2.11。结果表明,该例样本基线平整,符合三代建库标准。波纹龙虾是水产低等动物,RNA 只有单峰值,检测时会其他峰值干扰从而导致 RIN 值较低的情况,但 6 例混样的组织 RIN 值均符合二代测序要求。

**1.3 测序文库构建转录组** 文库的构建流程如图 1,构建好的文库进行质量检测后,在 Illumina 高通量测序平台 NovaSeq 6000 进行测序(诺禾致源科技有限公司,天津)。

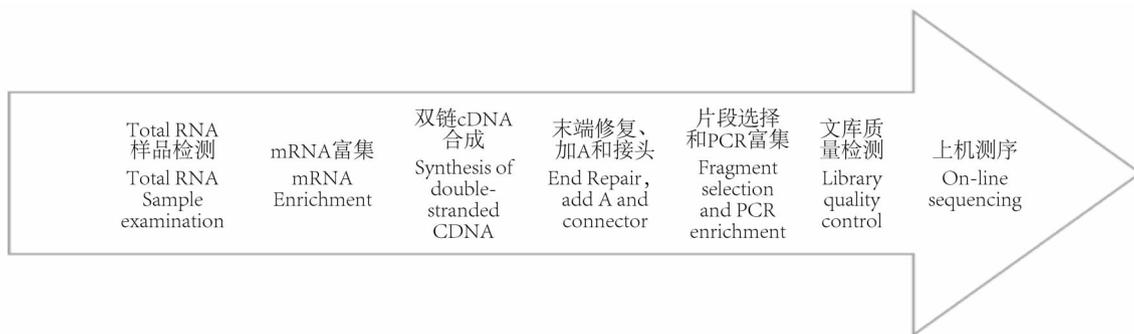


图 1 转录组文库构建

Fig.1 Transcriptome library construction

**1.4 全长转录组测序及序列分析** 测序完成后对原始下机数据进行去接头和低质量 reads,得到高质量数据,采用软件 SMRTlink v8.0 对高质量数据进行序列组装,得到波纹龙虾的转录组基因数据(Unigene)库。序列分析步骤分别是使用下机数据中 subreads.bam 文件通过 CCS 算法,对单分子多测序序列进行自我更正,获得 CCS (circular consensus sequence) 序列;通过检测 CCS 是否包含 poly-A,5'-primer,3'-primer,对 CCS 进行分类并找出 FLNC (full-length non chimera;全长非嵌合序列) 序列和 nFL (Non-Full-Length;非全长非嵌合序列) 序列;将同一转录本的 FLNC 序列使用 hierarchical n \* log (n) 算法聚类,得到 consensus 序列;最后对由此产生的全长序列进行 polish,获得 Polished consensus 序列进行后续分析。具体流程见图 2。

**1.5 基因功能注释** 全长转录组序列的功能注释及结构分析去冗余后的序列使用 CD-HIT 软件进行基因注释,使用的数据库包括:NR, KOG/COG,NT,Pfam,KEGG,Swiss-Prot,GO。

2 结果与分析

2.1 全长转录组测序与组装分析

**2.1.1 转录组测序数据质量分析。** 波纹龙虾正常条件下的肝胰腺、鳃丝、眼柄、肌肉和性腺,以及亚硝酸盐胁迫下的肝胰腺的转录组测序数据见表 1。碱基质量及组成分析显示,GC 含量区间为 35.34%~48.26%,各组织样品 Q20 碱基百分比不小于 97.56%,Q30 碱基百分比不小于 92.92%。这说明测序产出质量符合要求,能用于后续组装分析。转录本校正分析得出平均序列长度 4 147 bp,N50 为 4 671 bp,注释率为 93.74%。

表 1 数据产出质量情况

Table 1 Summary of data output quality

样品名称 Sample name	测序数量 Raw reads	过滤数量 Clean reads	有效率 Effective rate//%	碱基百分比 ≥20 Q20//%	碱基百分比 ≥30 Q30 %	G/C 百分比 GC content %
正常组(肝胰腺)Normal group (hepatopancreas)	22 569 062	21 133 058	93.64	98.33	94.58	43.64
亚硝酸盐(肝胰腺)Nitrite (hepatopancreas)	22 404 385	20 679 659	92.30	98.19	94.41	48.26
正常组(鳃丝)Normal group (branchial filament)	23 701 806	22 190 138	93.62	98.03	93.67	35.34
正常组(眼柄)Normal group (eyestalk)	22 383 538	21 091 590	94.23	98.10	94.09	43.88
正常组(肌肉)Normal group (musculature)	22 984 596	21 612 150	94.03	98.05	93.76	36.34
正常组[性腺(精巢)]Normal group [gonad (testis)]	32 226 665	30 907 830	95.91	97.56	92.92	39.58

**2.1.2 CDS 预测。** CDS(coding sequence)是编码一段蛋白产物的序列。在全长转录组的测序结果中,预测蛋白质编码区

有助于基因的初步分析,同时也是进行后续蛋白结构分析的基础。利用 ANGEL 软件进行 CDS 预测分析,结果显示共有

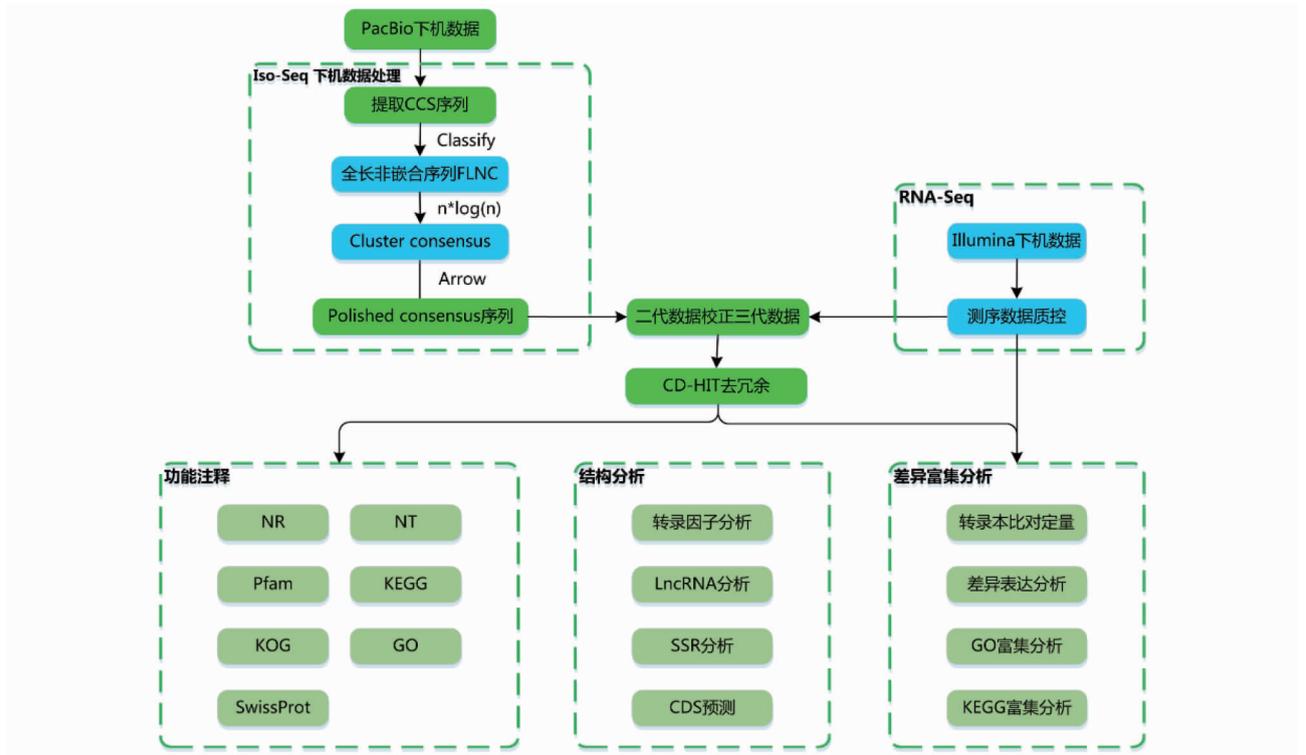


图2 Iso-Seq 分析流程

Fig.2 Iso-Seq analysis flow chart

1 043 个基因片段可视为蛋白编码区,其序列长度为 0~7 500 bp,主要集中于 300~2 500 bp(图 3)。

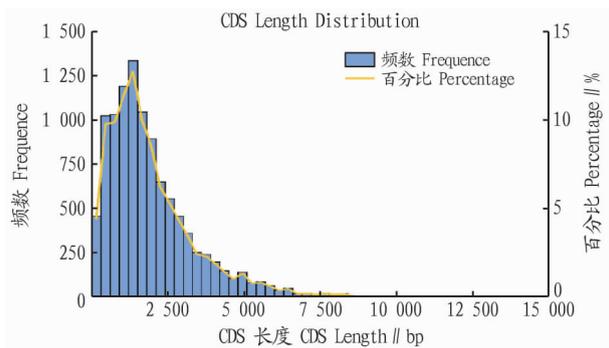


图3 CDS 长度分布

Fig.3 The statistics of sequence length of CDS

**2.1.3 lncRNA 分析。**lncRNA 是一类转录本长度超过 200 nt,不编码蛋白质的 RNA 分子。由于建库原理的限制,只能获得含有 polyA 尾的 lncRNA。使用 CNCI、PLEK、CPC2 软件以及 Pfam 数据库对 PacBio 测序数据进行编码潜能预测,最终分析得到 3 105 个 lncRNA 序列,其中共有数目为 272 个(图 4)。

**2.1.4 转录本分析。**测序结果与数据组装使用 PacBio 测序平台对波纹龙虾鳃、肝胰腺、肌肉、性腺和眼柄等组织混样进行全长转录组测序,对原始数据进行过滤,共获得 17 044 319 个子序列(大小 59.47 Gb),平均子序列长度为 3 490 bp,N50 为 4 037 bp。通过每个 ZMW 孔中子序列的 CCS 聚类之后得到的序列数为 517 682 个,序列平均长度为 4 181 bp,N50 为 4 965 bp。同时含有 3'引物和 5'引物,以及 3'引物前含有 polyA 尾的全长序列(Full-Length, FL)459 737 个,全长非嵌合序列

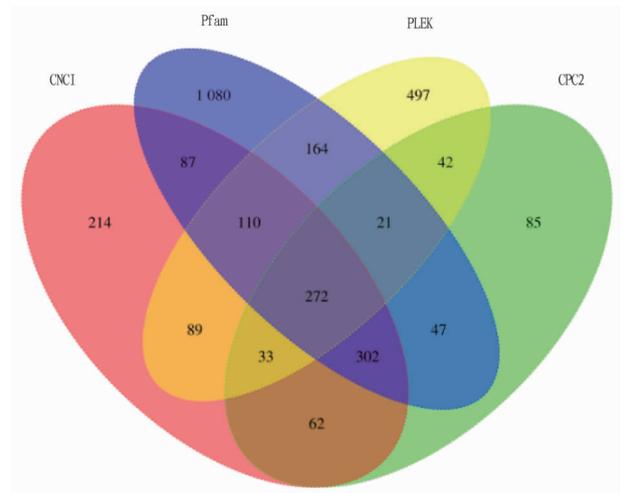


图4 编码潜能预测维恩图

Fig.4 Encoding potential prediction Venn diagram

(Full-Length non-chimericRead, FLNC)458 653 个,序列平均长度为 4 094 bp,N50 为 4 919 bp,FLNC/CCS 为 88.60%。全长转录组得到改良后一致序列 21 524 个,10 425 个 Unigenes(图 5),序列平均长度为 4 008 bp,N50 为 4 474 bp。

**2.2 Unigene 的功能注释 NR** Unigene 的功能注释 NR 数据库注释到 Unigene 的数量最多,为 9 580 个,NT 数据库注释到的最少,仅 3 498 个(图 6)。

**2.2.1 NR 分析。**NR 数据库注释将波纹龙虾转录组所获得的单基因簇序列在 NR 数据库中比对,共比对到 358 个物种,其中钩虾(*Hyalella azteca*)的同源序列最多,为 3 865 个,占注释序列总数的 40.34%,推测波纹龙虾与钩虾同源性较高;其

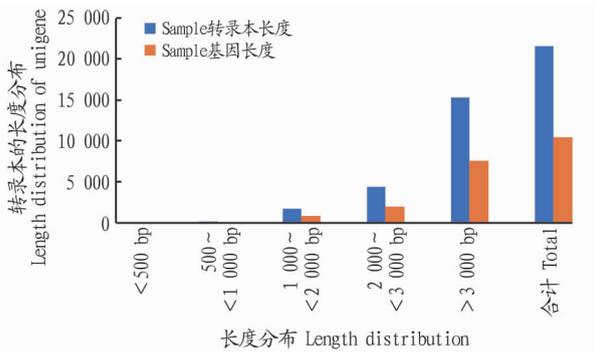


图5 波纹龙虾转录本的长度分布

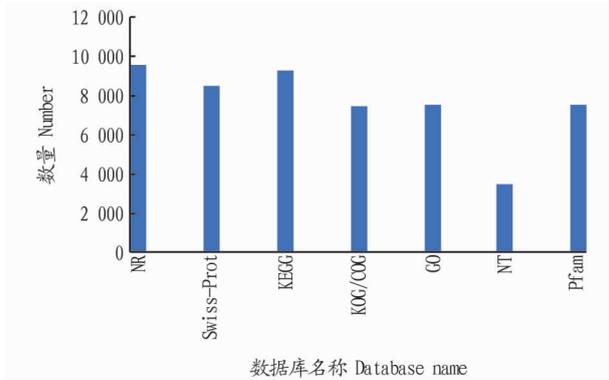
Fig.5 Length distribution of *Panulirus homarus* Unigene

图6 七大数据库注释统计结果

Fig.6 Annotation statistical results of seven databases

次为湿木白蚁 (*Zootermopsis nevadensis*) 563 个, 美洲鲎 (*Limulus polyphemus*) 291 个, 大型蚤 (*Daphnia magna*) 282 个, 凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 171 个, 斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 162 个, 鸭嘴舌形贝 (*Lingula anatine*) 142 个, 淡水枝角水蚤 (*Daphnia pulex*) 134 个, 中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 128 个, 叶蝉 (*Cuernaarida*) 103 个, 日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 96 个, 白氏文昌鱼 (*Branchiostoma belcheri*) 92 个, 囊舌虫 (*Saccoglossus kowalevskii*) 91 个, 赤拟谷盗 (*Tribolium castaneum*) 83 个, 鞘翅鸟 (*Clasoptera arizonana*) 82 个, 温室希蛛 (*Parasteatoda tepidariorum*) 74 个, 裸长角虫兆 (*Orchesella cincta*) 72 个, 淡水螯虾 (*Pacifastacus leniusculus*) 70 个, 红螯螯虾 (*Cherax quadricarinatus*) 68 个, 克氏原螯虾 (*Procambarus clarkia*) 66 个, 其他物种 2 945 个。

**2.2.2 GO 功能注释。**GO 功能注释结果见图 7~9, 共有 7 585 条 Unigenes 被注释分类, 从细胞组分可细分为 16 类, 占比最多的是细胞 (cell) 和细胞组成 (cell part) (44.85%), 其次为细胞器 (organelle) (17.57%) (图 7)。从分子功能细分为 10 类, 其中捆绑 (binding) 包含 Unigenes 最多 (64.31%), 催化活性 (catalytic activity) 次之 (41.08%) (图 8)。生物学过程可细分为 24 类, 细胞过程 (cellular process) 包含 Unigenes 最多 (42.50%), 代谢过程 (Metabolic process) 类次之 (40.07%) (图 9)。

**2.2.3 KOG 功能分类。**KOG 功能注释结果共有 7 436 条 Unigenes 被注释分类, 分布于 26 类 (图 10)。其中只是一般功能预测类共有 1 421 条注释信息, 占比最大 (19.11%), 其次为信号转导机制, 有 1 238 条注释信息 (16.65%), 未知蛋

白仅有 7 条 (7.13%)。

**2.2.4 KEGG 功能注释分析。**KEGG 功能注释结果显示, 共有 9 254 条 Unigenes 被注释分类, 分布于 347 个已知途径中, 其中前 12 个代谢途径, 注释基因数占总量的 25.26%。前 5 个途径分别是心肌细胞的肾上腺素能信号 (ko04261) 289 条、病毒性心肌炎 (ko05416) 254 条、心脏肌肉收缩 (ko04260) 236 条、癌症中的蛋白多糖 (ko05205) 200 条和局部黏连 (ko04510) 191 条 (表 2)。

表2 前12个代谢途径基因数量

Table 2 Number of genes in the first 12 metabolic pathways

代谢通路名称 Pathway ID	代谢通路 Pathway	基因数量 Gene number
ko04261	心肌细胞的肾上腺素能信号	289
ko05416	病毒性心肌炎	254
ko04260	心脏肌肉收缩	236
ko05205	癌症中的蛋白多糖	200
ko04510	局部黏连	191
ko05200	癌症的通路	186
ko05203	病毒致癌作用	177
ko04144	内吞作用	172
ko04141	内质网的蛋白质处理	170
ko04530	紧密连接	162
ko04810	肌动蛋白细胞骨架调节	160
ko04014	信号通路	141

**2.2.5 转录因子分析。**转录因子 (transcription factor, TF) 作为一类特殊的 DNA 结合蛋白, 可与基因 5' 末端上游的特定序列结合, 使目的基因可以特定时空表达, 通过转录因子与其他相关蛋白质的相互作用来激活或抑制转录效果, 发挥着重要的调控作用。动物转录因子鉴定使用动物转录因子数据库—animal TFDB 2.0 预测到转录因子家族共有 543 个, 属于 29 个家庭 (图 11), 其中转录因子家族较多的有: zf-C2H2 家族有 190 个, ZBTB 家族有 110 个, TEA 家族最少, 只有 1 个, 这些转录因子家族成员的获取可为后期波纹龙虾生长发育、代谢调节、免疫应答等相关研究奠定基础。

### 3 讨论

转录组测序技术是一种成本低, 能快速获取大量转录数据并对研究生物体生物学特性、基因功能、相关代谢途径和信号通路等具有重要作用的测序技术。转录组测序分析技术广泛应用于水产养殖相关研究中, 并已成为研究环境胁迫对甲壳动物免疫、生长、繁殖以及蜕壳等过程的影响的重要手段之一<sup>[13-14]</sup>。

该研究对波纹龙虾全长转录组进行测序及分析, 共获得 21 524 个转录本, 10 425 个 Unigenes, 转录本校正分析得出平均序列长度为 4 147 bp, N50 为 4 671 bp, 注释率为 93.74%, 测序结果可以看出, 组装得到序列完整性较好。利用 NR、NT、KOG、KEGG 等七大公共数据库进行功能注释分类, 有 9 580 个获得 NR 数据库注释, 对比到 358 个物种, 与钩虾对比的同源信息最多, 占 40.34%, 推测可能是由于钩虾与波纹龙虾的进化史和繁殖习性较为相似。将获得的波纹龙虾单基因簇与 GO 数据库进行匹配, 有 7 585 个得到 GO 注释, 被

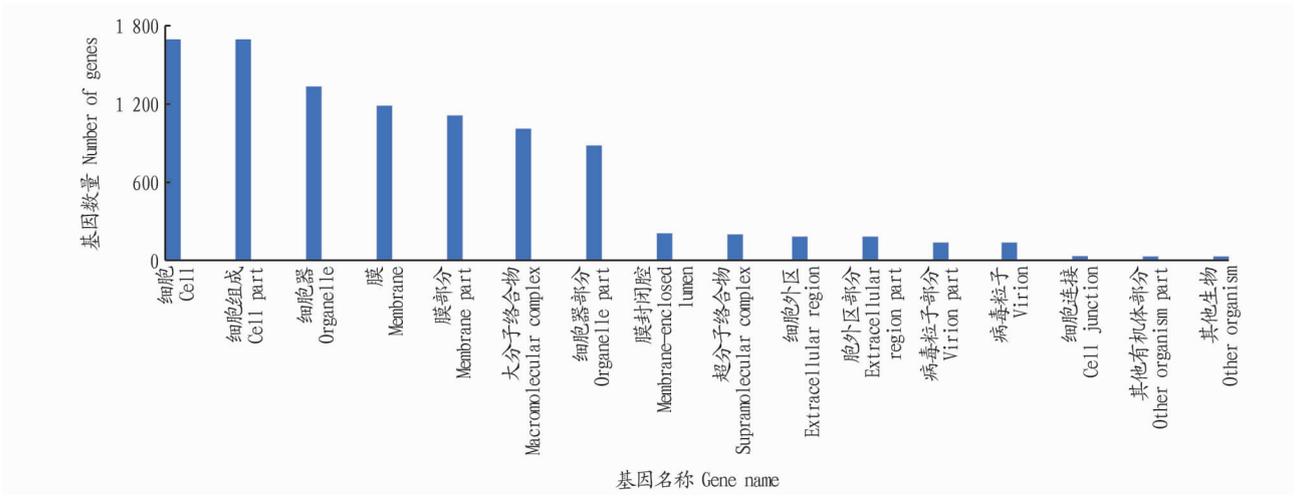


图 7 细胞组分

Fig.7 Cellular component

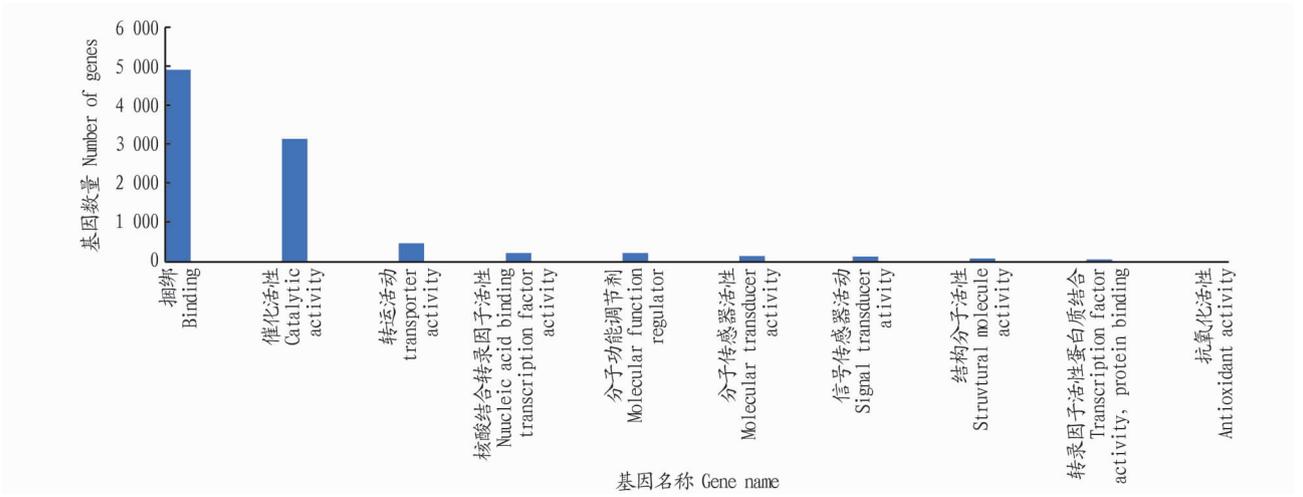


图 8 分子功能

Fig.8 Molecular function

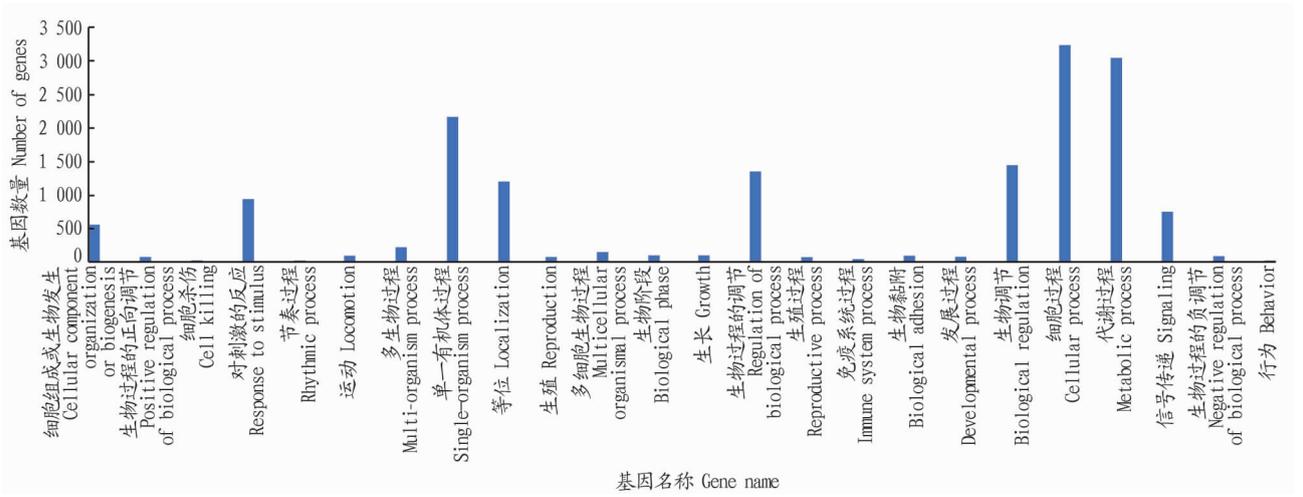


图 9 生物学过程

Fig.9 Biological process

划分到 BP、CC 及 MF3 大类,涵盖上述功能类别的 50 个亚类。通过 KOG 数据库对比波纹龙虾单基因簇,共有 7 436 个获得注释信息,共分为 26 个功能组分。与 KEGG 数据库对

比,最终波纹龙虾单基因簇注释到 6 大类 43 小类,其中基因数量较多的代谢通路有信号转导机制通路 887 个。李喜莲等<sup>[15]</sup>进行红螯螯虾肝脏、卵巢和精巢二代测序获得了 6 736

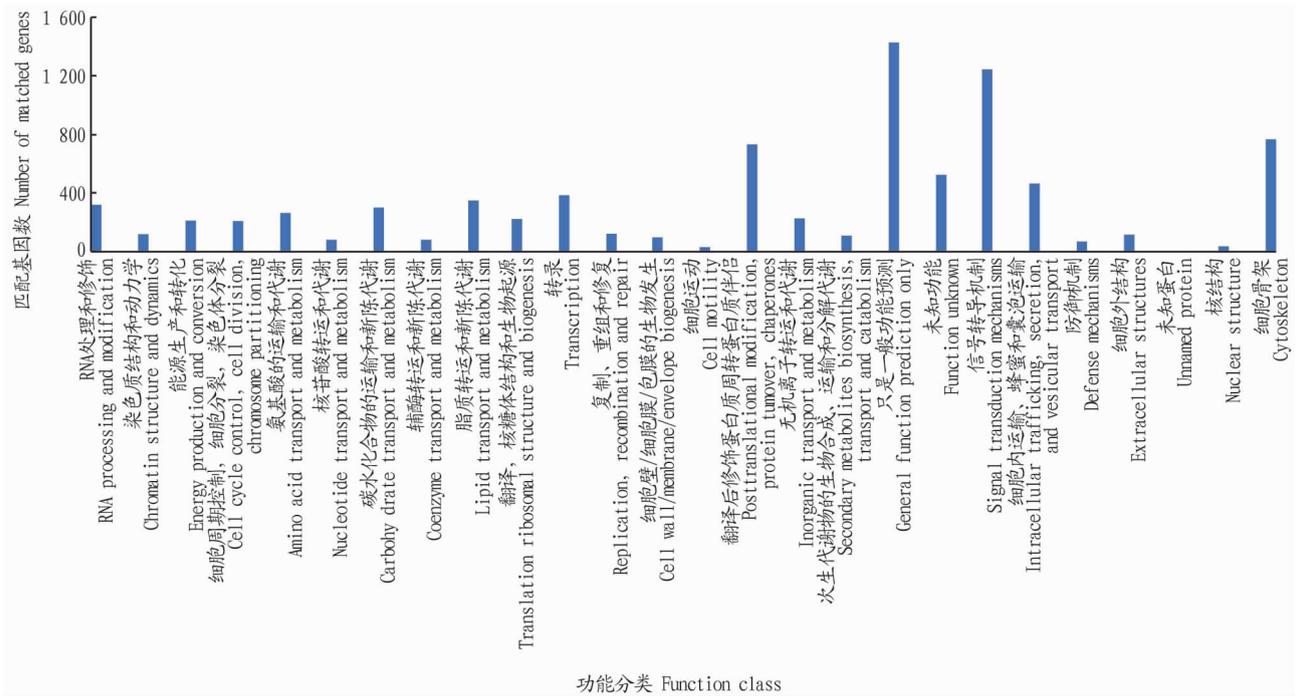


图 10 KOG 数据库注释统计

Fig.10 KOG database annotation statistics

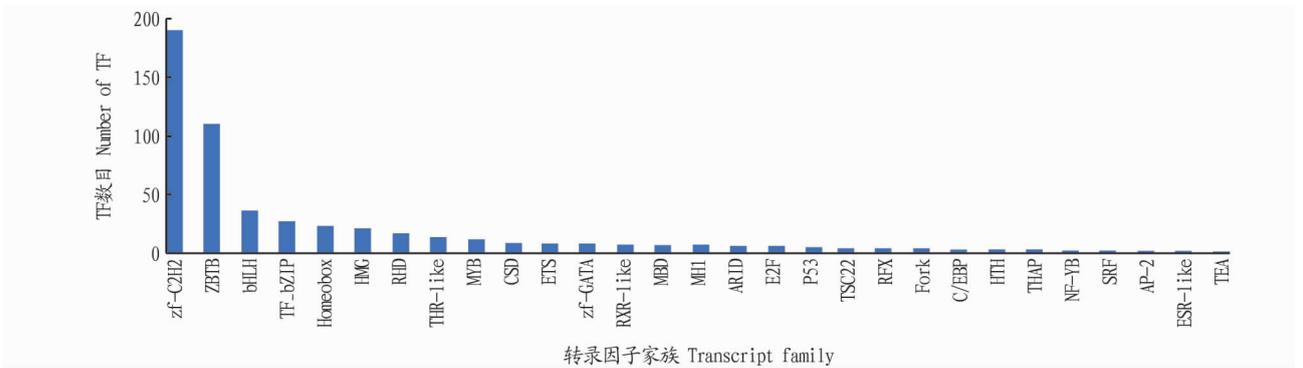


图 11 转录因子分析

Fig.11 Transcription factor analysis

条 Unigene, 注释到 GO 为 16 989 个, 注释到 COG 为 4 697 个, 注释到 KEGG 为 9 842 个。陈雪峰等<sup>[6]</sup>对罗氏沼虾卵巢 4 个不同发育期进行 2 代测序产生了 95 379 个 Unigenes, 注释到 GO 为 6 422 个, 注释到 KEGG 为 8 423 个。沈晔等<sup>[17]</sup>进行脊尾白虾对低盐胁迫响应的转录组学分析, 结果获得了 72 734 条 Unigenes, 注释到 NR 为 21 931 个。由此看出, 单分子实时测序技术获得的序列质量、基因数量和注释基因信息优于第二代测序。

李斌等<sup>[18]</sup>用波纹龙虾肝胰腺和卵巢组织的 mRNA 表达谱进行了 2 代转录组测序, 测序结果与该研究 3 代测序结果相差较大, 2 代测序总 Unigene 74 124 个, 而该研究为 10 425 个, 造成 3 代测序的 Unigene 比 2 代少的原因是 3 代测序进行了无参转录组对照测序, 只能比对到其他数据库, 这样测序出来的结果就远比 2 代的少。2 代测序基因功能注释率为 33.80%, 该研究为 93.74%; 2 代测序仅 14.00% 注释到 GO 数据库, 22.70% 注释到 KEGG 代谢途径, 12.00% 注释到 COG 蛋

白数据库。造成这种结果的原因可能是对波纹龙虾开展研究少, 国内外对波纹龙虾的研究报道也相对较少, 在 NCBI 数据库中找到龙虾属的核酸序列不足 1 000 条; 也有可能个体间的差异较大和测序上样量的不同, 2 代测序和 3 代测序条件和方法有所差异。生物分子数据库的完善对波纹龙虾的研究、养殖和保护起着重要作用, 因此加大波纹龙虾的分子生物学研究力度至关重要。

Zhang 等<sup>[19]</sup>通过凡纳滨对虾全长转录组文库获得 72 648 条高质量序列, Wang 等<sup>[20]</sup>通过对中国对虾进行全长转录组文库测序获得 10 795 条高质量序列。该研究通过波纹龙虾全长转录组文库最终获得 10 425 条高质量序列, 较斑节对虾、凡纳滨对虾和中国对虾少, 这可能是物种之间的差异。这些数据为进一步了解波纹龙虾的生物学特性、基因功能、相关代谢途径和信号通路等提供理论基础, 为后续研究提供一定参考。

(下转第 100 页)

高原地区草地生态系统极其脆弱。其次,大量的城镇化建设、超载畜牧及地下矿产资源开发,造成草地植被破坏、水土流失,这些问题都进一步加速了草地的退化<sup>[14]</sup>。

### 3 对策建议

**3.1 建立草地普查监测体系** 对全省草原资源的数量、质量、空间分布、演替程度、环境条件和利用现状进行调查,建立陕西省草原资源数据库,完善草原“一张图”。在榆林、延安等草原资源丰富地区,建设布局均衡、数量适当、结构合理的草原监测常规样地、草原固定监测点、草原生态长期定位观测站、草原监测预警中心,构建全省草原调查监测样地场地设施体系。建立信息野外监控采集、实时传输、智能终端数据处理系统,实现随时调取草原综合专项数据图件,满足草原资源基况监测、草原生态评价、年度性草原动态监测、专项应急性监测等多样化数据需求。

**3.2 完善草地保护制度体系** 严格执行《草原法》等法律法规,落实草原保护政策,明确各类产权主体及其权利义务,稳定和完善的草原承包经营制度,规范草原经营权流转,严格根据国家要求界定草原资源有偿使用范围。制定陕西省草原征占管理办法,规范草原征占审核审批,加大草原用途管制和草地分级保护,严禁擅自改变草原用途和性质;全面推进草原生态补偿机制落实,强化草原管护员队伍建设;加大草原执法监督力度,依法查处非法开垦、占用草原和乱采滥挖草原野生植物等行为。

**3.3 提高草原科技支撑力度** 各科研院所应加快草原有害生物防治,启动科技创新重大专项研究,针对不同类型、不同区域的地类因地制宜地进行草原生态修复。按照适种原则,

对坡度 25°以上的陡坡耕地、陡坡梯田和严重沙化耕地及撂荒弃耕地实施有序的退耕还林还草;在荒山等生态脆弱区,选择抗旱、抗寒、水保作用显著的草种进行大面积种植,着力改善土壤环境;在荒滩等水土流失明显的地段,种植根系发达的草种,着力提高土地的水源涵养等生态功能。

### 参考文献

- [1] 刘起.保护草地资源刻不容缓[J].北方经济(内蒙),1999(3):12-13.
  - [2] 夏安全,王艳芬,郝彦宾,等.复杂地形草地植被碳储量遥感估算研究进展[J].生态学报,2020,40(18):6338-6350.
  - [3] 赵熙贵,陈绍萍.贵州草地资源利用与保护研究[C]//农业部草原监理中心,中国草学会,2006 中国草业发展论坛论文集.北京:科学技术出版社,2006.
  - [4] 王世金,焦世泰,王淑新.西部生态安全建设与草原生态旅游发展研究[J].中国草地学报,2010,32(6):100-104,109.
  - [5] 白永飞,陈世革.中国草地生态系统固碳现状、速率和潜力研究[J].植物生态学报,2018,42(3):261-264.
  - [6] 赵祥.加强乡土草种资源研究,奠定草地生态修复基础[J].山西农业大学学报(自然科学版),2020,40(5):1.
  - [7] 刘艾,刘德福.草地资源的经济评价及资产化管理[J].中国草地,2004,26(4):62-66.
  - [8] 周招洪,张波,郑玉强,等.遵义市天然草地资源现状和生产力监测分析[J].当代畜牧,2019(6):27-29.
  - [9] 王晓玉,冯喆,吴克宁,等.基于生态安全格局的山水林田湖草生态保护与修复[J].生态学报,2019,39(23):8725-8732.
  - [10] 张永军.“五级林长”守青山:访陕西省林业局党组书记、局长党双忍[J].西部大开发,2021(7):82-87.
  - [11] 党兵,史社强,赵国平.用生态文明理念进行陕北资源开发区建设[C]//第十六届中国北方省(区)林业科学院(所)学术研讨会论文集.[出版地不详]:[出版者不详],2014.
  - [12] 环境保护部,中国科学院.全国生态环境十年变化(2000—2010年)遥感调查与评估[M].北京:科学出版社,2014.
  - [13] 马琪,刘康,涂纯,等.2000—2010年陕西北部不同类型草地面积及其覆盖度变化[J].植物科学学报,2018,36(1):54-64.
  - [14] 闫晓红,伊凤艳,邢旗,等.我国退化草地修复技术研究进展[J].安徽农业科学,2020,48(7):30-34.
- (上接第 97 页)
- 参考文献**
- [1] COSTA V, ANGELINI C, DE FEIS I, et al. Uncovering the complexity of transcriptomes with RNA-Seq[J]. Journal of biomedicine and biotechnology, 2010, 2010: 1-19.
  - [2] SANGER F, NICKLEN S, COULSON A R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors[J]. Proceedings of the national academy of sciences, 1977, 74(12): 5463-5467.
  - [3] SHENDURE J, BALASUBRAMANIAN S, CHURCH G M, et al. DNA sequencing at 40x: Past, present and future[J]. Nature, 2017, 550(7676): 345-353.
  - [4] YU X L, JIANG W Q, SHI Y, et al. Applications of sequencing technology in clinical microbial infection[J]. Journal of cellular and molecular medicine, 2019, 23(11): 7143-7150.
  - [5] 张金勇, 何暮春, 项子龙, 等. 基于全长转录组测序的金乌贼微卫星点筛选与特征分析[J]. 渔业科学进展, 2020, 41(6): 149-155.
  - [6] ZHANG X J, ZHOU J B, LIL M, et al. Full-length transcriptome sequencing and comparative transcriptomic analysis to uncover genes involved in early gametogenesis in the gonads of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) [J]. Frontiers in zoology, 2020, 17(1): 1-21.
  - [7] POOTAKHAM W, UENGWETWANIT T, SONTHIROD C, et al. A novel full-length transcriptome resource for black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) developed using isoform sequencing (Iso-Seq) [J]. Frontiers in marine science, 2020, 7: 1-5.
  - [8] 卓宏标, 郑秋耀, 梁华芳, 等. 波纹龙虾蜕壳周期的呼吸排泄和血淋巴生理学[J]. 广东海洋大学学报, 2019, 39(5): 24-30.
  - [9] 刘慧玲, 李长玲, 黄翔鹤, 等. 波纹龙虾胚胎的离体培养及发育观察[J]. 广东海洋大学学报, 2008, 28(4): 45-48.
  - [10] 李斌, 梁华芳, 陈兆明, 等. 波纹龙虾 C-型凝集素 PhLecA 的基因克隆与表达[J]. 热带海洋学报, 2016, 35(5): 29-37.
  - [11] ZHUO H B, LIANG H F, CAI C X, et al. Molecular cloning, characterization and expression analysis of the ecdysone receptor from the spiny lobster *Panulirus homarus* (Linnaeus, 1758) (Decapoda, Palinuridae) [J]. Crustaceana, 2020, 93(7): 769-783.
  - [12] 罗嘉俊, 卓宏标, 陈俊涛, 等. 波纹龙虾性腺抑制激素(GIH)基因克隆、表达及其对光周期的响应[J]. 大连海洋大学学报, 2021, 36(5): 727-735.
  - [13] JIANG H X, LI X L, SUN Y H, et al. Insights into sexual precocity of female oriental river prawn *Macrobrachium nipponense* through transcriptome analysis [J]. PLoS One, 2016, 11(6): 1-25.
  - [14] XUE S X, LIU Y C, ZHANG Y C, et al. Sequencing and de novo analysis of the hemocytes transcriptome in *Litopenaeus vannamei* response to white spot syndrome virus infection [J]. PLoS One, 2013, 8(10): 1-14.
  - [15] 李喜莲, 郭建林, 黄振远, 等. 红螯螯虾转录组高通量测序及分析[J]. 四川农业大学学报, 2019, 37(2): 241-246, 265.
  - [16] 陈雪峰, 王春琳, 顾志敏, 等. 罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 卵巢发育不同时期转录组分析[J]. 海洋与湖沼, 2019, 50(2): 398-408.
  - [17] 沈晔, 王兴强, 曹梅, 等. 脊尾白虾对低盐胁迫响应的转录组学分析[J]. 南方水产科学, 2020, 16(5): 19-32.
  - [18] 李斌, 梁华芳, 陈兆明. 波纹龙虾转录组分析与 C-型凝集素的初步研究 [C] // 2016 年中国水产学会学术年会论文摘要集. 北京: 中国水产学会, 2016: 8-24.
  - [19] ZHANG X J, LI G Y, JIANG H Y, et al. Full-length transcriptome analysis of *Litopenaeus vannamei* reveals transcript variants involved in the innate immune system [J]. Fish & shellfish immunology, 2019, 87: 346-359.
  - [20] WANG Q, HE Y Y, LI J. Conjoint analysis of SMRT-and illumina-based RNA-seq unencing data of *Fenneropenaeus chinensis* provides insight into sex-biased expression genes involved in sexual dimorphism [J]. Frontiers in genetics, 2019, 10: 1-11.