中国农业大学学报 2026,31(12):01-11
Journal of China Agricultural University http://zgnydxxb.ijournals.cn

谭凝雅,李操,刘科,王发明,包艳青,柴圆,白莉光,宝图雅,王勤. 全基因组重测序解析白龙驹马群体遗传结构与白色(奶油稀释)毛色候选基因[J]. 中国农业大学学报,2026,31(12):1-11.

TAN Ningya, LI Cao, LIU Ke, WANG Faming, BAO Yanqing, CHAI Yuan, BAI Liguang, BAO Tuya, WANG Qin. Whole-genome resequencing reveals population genetic structure and a candidate gene for the white (cream dilution) coat color phenotype in Bailongju horses[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2026, 31(12): 1-11.

DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2026.12.01

全基因组重测序解析白龙驹马群体遗传结构与白色(奶油稀释)毛色候选基因

谭凝雅[1] 李 操[1] 刘 科[3] 王发明[2] 包艳青[3] 柴 圆[2] 白莉光[3]
宝图雅[3] 王 勤[1*]

(1. 中国农业大学 动物科学技术学院,北京 100193;
2. 兴安职业技术大学 动物科学学院,内蒙古 兴安盟 137400;
3. 兴安盟农牧局,内蒙古 兴安盟 137400)

摘 要 为解析其白色(奶油稀释)毛色表型遗传基础,本研究以白龙驹马为研究对象,开展系统性健康指标检测,并基于全基因组重测序数据,采用主成分分析(PCA)、系统发育树(NJ tree)、群体结构分析(ADMIXTURE)和全基因组关联分析(GWAS),解析其遗传背景及白色(奶油稀释)毛色的潜在分子基础,同时对GWAS筛选的潜在关联位点进行PCR扩增与Sanger测序验证。结果显示:1)白龙驹马各项健康指标均处于正常参考范围,群体整体健康状况良好;2)遗传结构分析表明,白龙驹马兼具蒙古马与温血马的祖源特征,并在长期定向选育作用下形成可识别的群体遗传结构;3)GWAS显示,在第21号染色体*SLC45A2*基因区域检测到潜在关联位点rs1140980396,并经Sanger测序进一步验证,该位点为错义突变(g.31690653G>A),与OMIA报道的白色(奶油稀释)表型致因突变相对应。综上,本研究揭示了白龙驹马源于蒙古马和温血马的复合祖源特征,并表明其经长期定向选育已呈现区别于参考群体的独立遗传结构,并提示*SLC45A2*基因是白龙驹马白色(奶油稀释)毛色表型的潜在候选基因,为该群体的种质资源保护与分子标记辅助选育提供了理论依据。

关键词 白龙驹马;白色(奶油稀释)毛色;*SLC45A2*基因;全基因组重测序;群体遗传结构;全基因组关联分析

中图分类号 S821.8 **文章编号** 1007-4333(2026)12-0001-11 **文献标志码** A

Whole-genome resequencing reveals population genetic structure and a candidate gene for the white (cream dilution) coat color phenotype in Bailongju horses

TAN Ningya[1], LI Cao[1], LIU Ke[3], WANG Faming[2], BAO Yanqing[3], CHAI Yuan[2], BAI Liguang[3], BAO Tuya[3], WANG Qin[1*]

(1. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China;
2. College of Animal Science, Xing'an Vocational and Technical University, Xing'an League 137400, China;
3. Xing'an League Agriculture and Animal Husbandry Bureau, Xing'an League 137400, China)

Abstract To elucidate the genetic basis of its white (cream dilution) coat color phenotype, this study conducted systematic health indicator examinations on Bailongju horses. Based on whole-genome resequencing data, principal component analysis (PCA), phylogenetic tree construction (neighbor-joining tree), population structure

收稿日期:2026-04-27;接受日期:2026-06-18
基金项目:新疆维吾尔自治区重大科技专项(自治区级重点研发计划)(2023A02005-1)
第一作者:谭凝雅(ORCID:0009-0006-4340-2351),硕士研究生,E-mail:2738585204@qq.com
通讯作者:王勤(ORCID:0000-0002-7343-2010),教授,主要从事动物遗传育种、动物福利与健康研究,E-mail:wangqin@cau.edu.cn

analysis (ADMIXTURE), and a genome-wide association study (GWAS) were used to analyze the genetic background and the potential molecular basis of the white (cream dilution) coat color. Meanwhile, potential associated loci identified by GWAS were validated by PCR amplification and Sanger sequencing. The results showed that: 1) All health indicators of Bailongju horses were within normal reference ranges, indicating good overall population health. 2) Population genetic structure analysis indicated that Bailongju horses possess ancestry components from both Mongolian horses and Warmblood horses, and have developed a distinguishable population genetic structure under long-term directional selection. 3) A potential associated locus rs1140980396 in the *SLC45A2* gene region on chromosome 21 was detected by GWAS, which was further validated as a missense mutation (g.31690653G>A), corresponding to the causal mutation for the white (cream dilution) phenotype reported in OMIA (Online Mendelian Inheritance in Animals). In conclusion, this study reveals that Bailongju horses have a composite ancestry derived from Mongolian and Warmblood horses and demonstrated that, following long-term directional breeding, they have developed a distinct population genetic structure that distinguishes it from reference groups. Futhermore, our results suggest that *SLC45A2* is a potential candidate gene for the white (cream dilution) coat color phenotype in the Bailongju horse population. These findings provide a theoretical basis for germplasm resource conservation and molecular marker-assisted breeding of the Bailongju horse population.

Keywords Bailongju horse; white (cream dilution) coat color; *SLC45A2*; whole-genome resequencing; population genetic structure; GWAS

马的毛色主要由黑色素的类型、含量及其在毛囊中的分布等因素决定，其中黑色素包括真黑素（Eumelanin）与褐黑素（Pheomelanin）。黑色素由毛囊黑色素细胞内的黑色素体中合成，其形成过程受多条通路信号共同调控，目前已发现多个基因参与不同毛色表型的形成[1]。黑皮质素1受体基因（Melanocortin 1 receptor，*MC1R*）激活促进真黑素合成；刺豚鼠信号蛋白（Agouti signaling protein，*ASIP*）作为*MC1R*拮抗剂促进褐黑素形成，是决定马毛色差异的重要分子开关[2]。酪氨酸酶（Tyrosinase，*TYR*）、酪氨酸酶相关蛋白1（Tyrosinase related protein 1，*TYRP1*）和多巴色素异构酶（Dopachrome tautomerase，*DCT*）等酪氨酸酶家族基因直接参与黑色素合成，对色素沉积起关键作用[3]。除色素合成通路外，黑色素细胞的发育、迁移及功能维持同样决定了毛色的呈现。如*KIT*基因（KIT proto-oncogene，receptor tyrosine kinase，*KIT*）编码受体酪氨酸激酶，在黑色素细胞迁移、增殖及存活中发挥核心作用，其突变可导致白斑及花斑表型[4]；小眼畸形相关转录因子（Microphthalmia-associated transcription factor，*MITF*）作为黑色素细胞谱系的主调控因子，能够调控*TYR*、*TYRP1*等多种色素基因表达，其功能缺失会导致黑色素细胞发育障碍甚至消失[5]。溶质载体家族45成员2（Solute carrier family 45 member 2，*SLC45A2*）负责维持黑色素体内环境稳定，其功能异常会影响酪氨酸酶活性，已有研究证实*SLC45A2*变异可导致马白色（奶油稀释）毛色以及部分浅色毛色的表型[6]。此外，眼皮肤白化病Ⅱ型蛋白（Oculocutaneous albinism II protein，OCA2）和*SLC24A5*也参与调控黑色素体的功能，其突变通常引起色素减退，严重时导致白化表型[7]。综上，马白色或浅色毛色表型的遗传机制可分为三类：一是黑色素细胞发育、迁移或存活异常导致细胞数量减少或缺失（如*KIT*、*MITF*相关）；二是黑色素合成通路障碍（如*TYR*通路相关）；三是黑色素体功能或色素转运异常引起的色素稀释（如*SLC45A2*相关）。尽管近年来在多种动物中已鉴定出大量毛色调控基因，但特定白色群体的系统研究较匮乏，尤其是针对马特定白色群体的分子机制解析十分有限。

白龙驹马是以蒙古马为母本、温血马为父本，由内蒙古白龙驹马业有限公司经杂交选育形成的特色马群体。白龙驹马培育始于1995年，至2022年完成选育工作，累计繁育群体达2000余匹。该群体最显著的外貌特征为白色（奶油稀释）毛色、蓝眼及粉色皮肤（图1），在观赏、文化及遗传研究等方面具有独特价值。作为高辨识度的特殊毛色群体，白龙驹马群体为解析马属动物色素稀释机制提供了理想材料。因此，本研究从分子水平系统阐明其毛色形成的遗传基础，对丰富马毛色遗传理论、促

进特色种质资源保护与开发利用具有重要意义。

鉴于部分浅色或白化相关表型可能伴随视觉异常、发育缺陷或其他健康问题，本研究首先对白龙驹马群体开展系统性健康评估，明确其白色（奶油稀释）毛色表型是否伴随相关生理异常；然后在此基础上，结合群体遗传学分析与全基因组关联分析（GWAS），解析白龙驹马遗传结构特征及白色（奶油稀释）毛色表型的分子遗传机制，并结合OMIA数据库注释和Sanger测序对潜在关联位点进行验证。本研究旨在为白龙驹马分子标记开发、遗传改良及种质资源保护提供理论依据。



图 1　白龙驹马及其白色（奶油稀释）毛色表型

Fig. 1　Bailongju horse and its white（cream dilution）coat color phenotype

1　材料与方法

1.1　样本采集

本研究所有动物样本均来自内蒙古兴安盟乌兰浩特市葛根庙镇兴安职业技术大学白龙驹研究所繁育基地。样本采集操作严格遵循中国农业大学实验动物福利与动物实验伦理（批准号：A2052606202-1-05），并采取有效措施最大限度减少采样过程中的动物应激与不适。

具体样本信息如下：

1）基因组分析样本

选取具有典型的白色（奶油稀释）毛色表型的白龙驹马（BLJ，n=44）样本作为白毛组，对照组数据取自公共数据库中已有的马全基因组重测序结果，其中主成分分析（Principal component analysis，PCA），系统发育树（Neighbor-joining tree，NJ tree）和群体遗传结构分析（ADMIXTURE）对照个体为蒙古马（MON，n=27）、温血马（WB，n=49）、纯血马（THB，n=45），全基因组关联分析（GWAS）对照为公共数据库中所有可用个体。

2）眼部健康检测样本

独立选取18匹成年健康白龙驹马个体，用于开展眼科专项健康检测，以评估白色（奶油稀释）毛色表型是否伴随潜在眼部异常。

3）精液质量检测样本

独立选取3匹健康白龙驹马种公马，年龄分别为3岁、4岁和8岁，采精并于液氮条件下保存，用于精液质量相关指标的标准化检测与分析。

4）血液学检测样本

独立选取6匹健康白龙驹马（2匹公马，4匹母马）作为受检个体，采集静脉血样，用于外周血常规检测及血清生化指标分析。

1.2　健康指标检测

1.2.1　眼科检查

眼科专项检查由乐驰马医疗执业兽医在标准检查环境中完成，检测项目包括视力评估、眼睑检查、泪器系统检查、眼球检查、结膜检查、角膜检查、巩膜检查及瞳孔反射检查。所有检测数据参照马属动物眼科正常生理参考范围，对白龙驹马群体的眼部健康状况进行评估。

1.2.2　血液学检测

外周血常规及血清生化指标检测由望康24 h宠物医院按照兽医临床检验常规流程完成。外周血常规检测涵盖白细胞系、红细胞系和血小板系相关参数；血清生化检测则包括蛋白代谢、肝胆功能、肾功能、心肌及骨骼肌损伤相关酶指标、能量代谢指标以及矿物质与电解质代谢指标。所有检测数据参照马属动物血液学正常生理参考范围，对白龙驹马群体的相关血液学健康状况进行评估。

1.2.3　精液质量检测

种公马冷冻精液样本质量检测依据《马冷冻精液生产技术规程》（T/CNHIA 20—2025）执行。检测指标包括精液外观、解冻后精子活力、精子密度、精子畸形率及顶体完整率。依据该规程中的质量评价标准，对白龙驹马群体冻精样本质量等级进行判定。

1.3　基因组测序

采集44匹白龙驹马带毛囊的毛发样本用于基

因组DNA提取，由上海美吉生物医药科技有限公司基于华大T7测序平台完成全基因组重测序，目标测序深度为10×。

1.4 单核苷酸变异检测

基于44匹白龙驹马的全基因组重测序数据，经马参考基因组EquCab3.0比对和变异检测后获得原始VCF文件。随后采用GATK v4.4.0[8]进行硬过滤（QD＜2.0、QUAL＜30.0、SOR＞3.0、FS＞60.0、MQ＜40.0、MQRankSum＜－12.5、ReadPosRankSum＜－8.0），样本平均测序深度为9.77×，平均比对率为91.16%，最终获得32 728 124个高质量变异位点，其中SNP 30 089 634个、InDel 2 638 490个，SNP与InDel比约为11.40，SNP转换（Transition，Ti）和颠换（Transversion，Tv）分别为19 276 782个和10 812 852个，Ti/Tv比值为1.78。后续群体遗传结构分析和全基因组关联分析（GWAS）均基于该高质量SNP数据集开展。

1.5 参考面板数据合并与质量控制

全球马参考群体（Global horse reference panel，GHRP）[9]由中国农业大学王勤教授课题组开发并公开发布。GHRP包含1 873匹马的全基因组重测序数据（中位测序深度为13.3×），其中，1 013个样本来源于NCBI公共数据库，其余860个为新测样本，涵盖22个中国地方品种和11个东亚培育品种。GHRP经统一质控后（剔除KING kinship系数＞0.177样本对中的冗余个体，剔除missing rate＞0.1样本，保留MAF＞0.01且HWE $P＞1×10^{-15}$的双等位基因变异位点），最终提供3 270万个高质量常染色体变异位点。本研究将自有样本与GHRP数据进行联合分析，为确保跨数据集基因型数据的兼容性与分析结果的可靠性，合并前以马参考基因组EquCab3.0为基准，对不同来源数据的基因组坐标及等位基因方向进行统一校正。随后利用PLINK v2.0对合并后的数据进行质量控制，剔除MAF＜0.05的变异位点；为降低连锁不平衡（LD）对群体遗传分析的影响，采用--indep-pairwise 50 5 0.2参数进行LD剪枝（50 SNP滑动窗口、步长5、r^2阈值0.2）。经质控与LD剪枝后，获得111 429个独立高质量SNP位点，用于PCA、NJ系统发育树及ADMIXTURE分析。全量质控后变异数据用于全基因组关联分析（GWAS），MAF过滤与LD剪枝后的SNP数据集专用于群体遗传结构与遗传关系解析。

1.6 群体遗传结构分析

基于筛选获得的高质量SNP位点开展群体遗传结构分析，主成分分析（PCA）利用PLINK v2.0软件完成，以蒙古马、温血马和纯血马作为对照群体，提取前2个主成分（PC1和PC2）表征群体间遗传差异[10]。利用R语言绘制分组散点图，评估白龙驹马群体与参考群体的遗传关系及分化程度。系统发育树先基于SNP数据采用邻接法（Neighbor-joining，NJ）计算个体遗传距离矩阵，随后利用FastME软件构建NJ系统发育树[11]，并采用R语言进行可视化与编辑。祖先成分推断采用ADMIXTURE软件的最大似然估计框架，设定祖先群体数（K值）为2～4，依据交叉验证误差（Cross-validation error，CV error）确定最优K值，并利用Python绘制祖先成分分布图解析白龙驹马的遗传来源及混合特征。上述方法可有效揭示白龙驹马群体的群体遗传结构、分化程度及群体间亲缘关系[12]。

1.7 全基因组关联分析与候选区域精细定位分析

以白龙驹马（n=44）为白毛组、GHRP质控后个体（n=857）为对照组开展GWAS。在统一参考基因组坐标体系下完成基因型整合及质控后，采用SAIGE软件进行二分类性状关联分析。SAIGE基于广义线性混合模型利用全基因组遗传关系矩阵对个体相关性和群体结构进行校正，并采用leave-one-chromosome-out（LOCO）策略，即在检测某一染色体上的变异时，从背景遗传关系估计中排除该染色体变异，避免待检变异干扰亲缘关系矩阵估计，结果以Manhattan图可视化[13]。为解析显著关联区域内位点的连锁关系，以rs1140980396为中心±500 kb区间开展连锁不平衡（Linkage disequilibrium，LD）精细定位分析[14]。该分析要求候选区间位点分型完整，故剔除7个存在目标区域位点缺失个体，最终纳入37匹白龙驹马进行LD精细定位。

1.8 Sanger测序验证

结合OMIA数据库[15]和Ensembl[16]分析结果，从基因组分析样本中随机选取10匹白龙驹马毛囊DNA样本，对GWAS筛选的潜在关联位点进行PCR扩增与Sanger测序验证[17]。根据EquCab3.0中目标位点侧翼序列，利用NCBI Primer-BLAST设计特异性引物，上游引物为AGCAAAGGGAGAGAGCTT-

GAT（21 bp，*T*m＝59.09 ℃）、下游引物为 TGCAGAGACACTGGATGGCT（20 bp，*T*m＝61.2 ℃），由北京擎科生物科技股份有限公司合成。PCR体系为20 μL，包含2×PCR Mix 10 μL、正/反向引物（10 μmol/L）各0.4 μL、基因组DNA模板1.0 μL、无核酸酶水8.2 μL。扩增程序为：95℃预变性5 min；35个循环（95 ℃变性10 s，58 ℃退火10 s，72℃延伸10 s）；72 ℃终延伸2 min。PCR产物经琼脂糖凝胶电泳检测片段大小及特异性后，委托北京擎科生物科技股份有限公司进行正向Sanger测序。测序峰图使用SnapGene软件查看，并与EquCab3.0参考基因组序列比对，验证目标SNP位点的基因型准确性。

2　结果与分析

2.1　健康指标检测

眼科专项检查结果表明，白龙驹马的眼球、角膜、巩膜、瞳孔、眼睑及泪器等结构发育正常，未见视力障碍、炎症病变或组织损伤等异常，亦未发现与眼部色素缺失相关的发育缺陷。

血液学检测结果表明，白细胞、红细胞及血小板相关参数均处于正常生理范围，无明显感染、免疫异常或贫血等病理特征（表1）。血清生化检测结果显示，蛋白代谢、肝肾功能、能量代谢及电解质平衡等各项指标均处于正常范围，未见代谢紊乱或重

表 1　白龙驹马血液学检测结果

Table 1　Hematological test results in Bailongju horses

细胞 Cell	指标 Index	参数 Parameter	正常范围值 Reference range	平均值 Average	正常/异常 Normal/Abnormal
白细胞 Leukocyte	白细胞数目	WBC	5.00～12.00	9.87	正常
	中性粒细胞数目	Neu#	2.18～6.96	4.40	正常
	淋巴细胞数目	Lym#	1.32～5.86	4.93	正常
	单核细胞数目	Mon#	0.05～0.92	0.33	正常
	嗜酸性粒细胞数目	Eos#	0.01～1.00	0.18	正常
	嗜碱性粒细胞数目	Bas#	0.00～0.12	0.02	正常
	中性粒细胞百分比	Neu%	0.380～0.700	0.43	正常
	淋巴细胞百分比	Lym%	0.250～0.620	0.55	正常
	单核细胞百分比	Mon%	0.010～0.080	0.03	正常
	嗜酸性粒细胞百分比	Eos%	0.001～0.080	0.02	正常
	嗜碱性粒细胞百分比	Bas%	0.000～0.012	0.00	正常
红细胞 Erythrocyte	红细胞数目	RBC	5.30～10.50	8.21	正常
	血红蛋白浓度	HGB	100～170	126.17	正常
	红细胞压积	HCT	0.300～0.490	0.33	正常
	平均红细胞体积	MCV	37.0～59.0	40.98	正常
	平均红细胞血红蛋白含量	MCH	13.5～19.5	15.73	正常
	平均红细胞血红蛋白浓度	MCHC	300～380	378.50	正常
	红细胞分布宽度变异系数	RDW-CV	0.195～0.250	0.23	正常
	红细胞分布宽度标准差	RDW-SD	35.5～45.8	35.85	正常
血小板 Platelet	血小板数目	PLT	90～360	148.67	正常
	平均血小板体积	MPV	5.5～8.0	6.18	正常
	血小板分布宽度	PDW	12.0～17.5	14.93	正常
	血小板压积	PCT	0.50～2.60	0.90	正常

注：#表示细胞绝对计数；%表示细胞分类百分比。WBC，白细胞计数；Neu，中性粒细胞；Lym，淋巴细胞；Mon，单核细胞；Eos，嗜酸性粒细胞；Bas，嗜碱性粒细胞；RBC，红细胞计数；HGB，血红蛋白；HCT，红细胞压积；MCV，平均红细胞体积；MCH，平均红细胞血红蛋白含量；MCHC，平均红细胞血红蛋白浓度；RDW-CV，红细胞分布宽度变异系数；RDW-SD，红细胞分布宽度标准差；PLT，血小板计数；MPV，平均血小板体积；PDW，血小板分布宽度；PCT，血小板压积。

Note：# indicates the absolute count of each leukocyte subtype，and % indicates the relative percentage of each leukocyte subtype. WBC，white blood cell count；Neu，neutrophil；Lym，lymphocyte；Mon，monocyte；Eos，eosinophil；Bas，basophil；RBC，red blood cell count；HGB，hemoglobin；HCT，hematocrit；MCV，mean corpuscular volume；MCH，mean corpuscular hemoglobin；MCHC，mean corpuscular hemoglobin concentration；RDW-CV，red cell distribution width-coefficient of variation；RDW-SD，red cell distribution width-standard deviation；PLT，platelet count；MPV，mean platelet volume；PDW，platelet distribution width；PCT，plateletcrit.

要脏器功能异常(表2)。种公马冻精质量检测结果表明白龙驹马种公马精子活力、密度、畸形率及顶体完整率均符合《马冷冻精液生产技术规程》(T/CNHIA 20—2025)相关标准,表明其繁殖性能正常(表3)。综上,所有检测指标均处于正常参考范围内,未发现与该毛色表型相关的特异性健康缺陷。

表 2 白龙驹马血清生化分析结果

Table 2 Results of serum biochemical analysis in Bailongju horses

项目分类 Category	指标 Index	参数 Parameter	正常范围值 Reference range	平均值 Average	正常/异常 Normal/Abnormal
蛋白质 Protein	总蛋白	TP	55.0～80.0	59.93	正常
	白蛋白	ALB	25.0～42.0	29.28	正常
	球蛋白	GLOB	25.0～45.0	28.47	正常
	白球比	A/G	1.0～2.5	1.05	正常
肝胆 Hepatobiliary	丙氨酸氨基转移酶	ALT	5.0～50.0	7.83	正常
	天门冬氨酸氨基转移酶	AST	160.0～600.0	255.03	正常
	碱性磷酸酶	ALP	10.0～310.0	214.90	正常
	谷氨酰基转移酶	GGT	0.0～60.0	20.07	正常
	总胆红素	TBIL	0.0～40.0	13.36	正常
	总胆汁酸	TBA	0.0～20.0	8.17	正常
胰腺 Pancreas	淀粉酶	AMY	0.0～40.0	＜5.00	正常
肾脏 Kidney	尿素氮	BUN	3.6～9.6	4.72	正常
	血肌酐	CREA	35.0～190.0	111.03	正常
	乳酸脱氢酶	LDH	210.0～700.0	325.25	正常
心血管/肌肉 Cardiac and skeletal muscle	肌酸激酶	CK	60.0～430.0	271.80	正常
能量代谢 Energy metabolism	葡萄糖	GLU	3.5～7.0	4.05	正常
	总胆固醇	TC	1.3～3.5	2.76	正常
	甘油三酯	TG	0.1～0.7	0.33	正常
矿物质 Minerals	钙	Ca	2.6～3.5	2.91	正常
	磷	PHOS	0.6～1.6	1.01	正常
	镁	Mg	0.6～1.0	0.76	正常
电解质 Electrolytes	钠离子	Na^+	130.0～145.0	140.42	正常
	钾离子	K^+	2.9～5.4	4.55	正常
	氯离子	Cl^-	95.0～108.0	99.57	正常

注:TP,总蛋白;ALB,白蛋白;GLOB,球蛋白;A/G,白球比;ALT,丙氨酸氨基转移酶;AST,天门冬氨酸氨基转移酶;ALP,碱性磷酸酶;GGT,γ-谷氨酰转移酶;TBIL,总胆红素;TBA,总胆汁酸;AMY,淀粉酶;BUN,尿素氮;CREA,肌酐;CK,肌酸激酶;LDH,乳酸脱氢酶;GLU,葡萄糖;TC,总胆固醇;TG,甘油三酯;Ca,钙;PHOS,无机磷;Mg,镁;Na^+,钠离子;K^+,钾离子;Cl^-,氯离子。

Note: TP, total protein; ALB, albumin; GLOB, globulin; A/G, albumin/globulin ratio; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; ALP, alkaline phosphatase; GGT, gamma-glutamyl transferase; TBIL, total bilirubin; TBA, total bile acid; AMY, amylase; BUN, blood urea nitrogen; CREA, creatinine; CK, creatine kinase; LDH, lactate dehydrogenase; GLU, glucose; TC, total cholesterol; TG, triglyceride; Ca, calcium; PHOS, phosphorus; Mg, magnesium; Na^+, sodium; K^+, potassium; Cl^-, chloride.

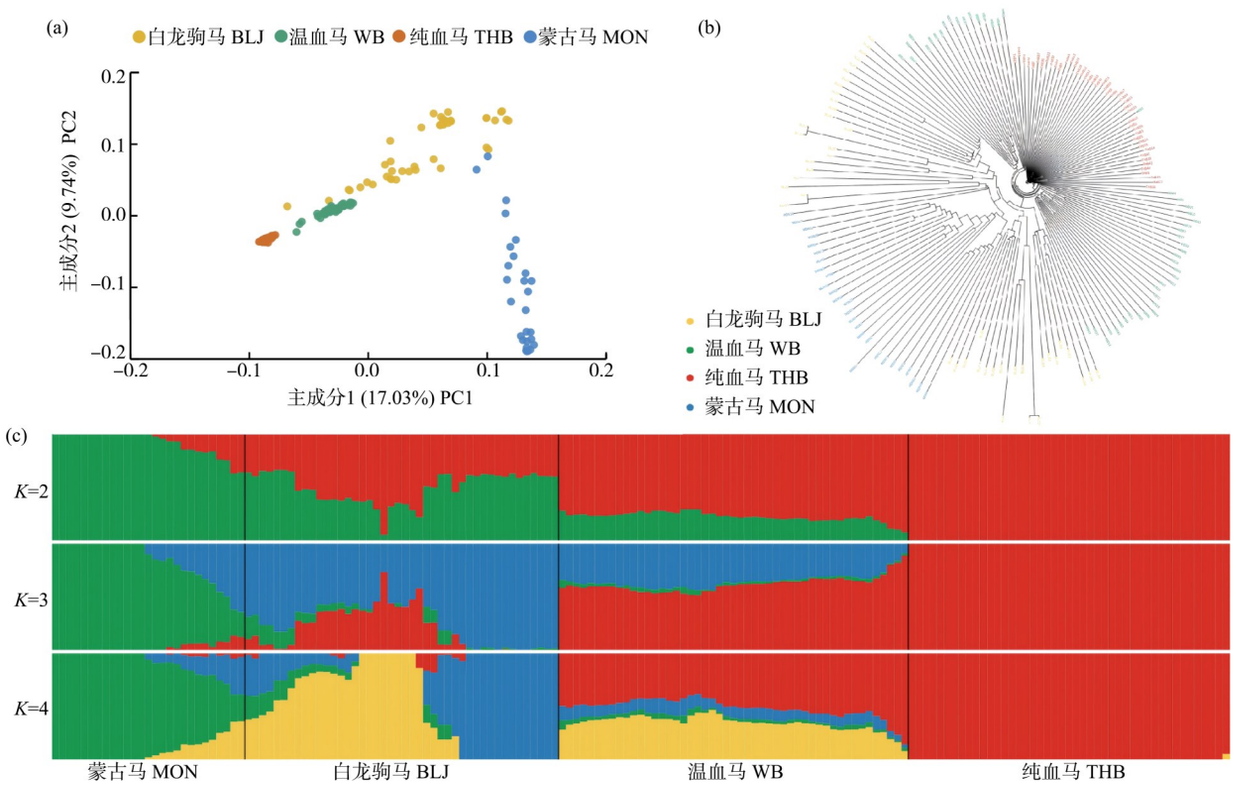
2.2 群体遗传学分析

PCA分析(图2(a))显示4个种群在前2个主成分空间中总体呈现分化趋势,前2个主成分分别解释了17.03%和9.74%的遗传变异,温血马和纯血马都形

表 3　白龙驹马种公马冻精质量检测结果

Table 3　Quality assessment of frozen semen from Bailongju stallions

检测项目 Test item	参考标准（T/CNHIA20—2025） Reference standard（T/CNHIA20—2025）	检测结果 Test result	判定 Assessment
外观 Appearance	乳白色或浅灰色，无异味	精液乳白无异味	合格
精子活力/%（解冻后） Sperm motility（after thawing）	≥40	60	合格
精子密度/（10^6/mL） Sperm density	≥200	300	合格
精子畸形率/% Sperm abnormality rate	≤20	5	合格
顶体完整率/% Acrosomal integrity	≥80	87	合格



（a）主成分分析（PCA）。BLJ：白龙驹马；WB：温血马；THB：纯血马；MON：蒙古马。（b）NJ 树分析。（c）ADMIXTURE 群体结构分析。不同颜色代表不同的祖先来源。

（a）Principal component analysis（PCA）. BLJ：Bailongju horse；WB：Warmblood horse；THB：Thoroughbred horse；MON：Mongolian horse.（b）Neighbor-joining（NJ）tree analysis.（c）ADMIXTURE analysis. Different colors represent distinct ancestral genetic components.

图 2　白龙驹马及其参考群体遗传学分析

Fig. 2　Population genetic analyses of Bailongju horses and reference populations

成了相对集中的独立簇群，蒙古马主要分布于PC1正向区域，白龙驹马个体在PC空间呈现较广的连续分布特征，反映该群体在长期选育过程中保留了丰富的遗传多样性，未出现因过度闭锁繁育导致的近交衰退；同时其分布区域兼具蒙古马与温血马的祖源特征，部分个体沿PC2方向呈差异偏移，提示白龙驹马在融合双亲本基因库的基础上已初步形成适应本土环境的独特选育方向。前两个主成分仅解释26.77%的遗传变异，剩余信息在二维平面被压缩亦是分布范围观感较宽的原因之一。PCA结果表明，白龙驹马具

有由蒙古马和温血马共同贡献的复合祖源背景，并呈现与其培育历史一致的群体分布特征。

NJ树分析（图2（b））显示各个群体能够形成相对独立的分支，蒙古马与纯血马个体分别聚集于单一分支，未见明显分散。白龙驹马个体在NJ树上形成两个相近的主要分支，整体位于蒙古马与温血马参考群体之间，反映其共同的复合祖源及群体内遗传多样性。NJ树结果与白龙驹马以蒙古马和温血马为基础、经长期定向选育形成的培育历史相一致。

ADMIXTURE分析（图2（c））进一步揭示了白龙驹马由蒙古马和温血马共同贡献的复合祖源结构，该结构与其长期杂交改良和定向选育历史相一致。交叉验证误差（CV）在$K=3$时最小，表明该模型为最优祖先群数。当$K=3$时，纯血马几乎保持单一祖先来源，蒙古马主要表现为另一种独特的祖先成分，温血马由2种主要祖先成分构成，而白龙驹马呈现3种祖源成分，其组成兼具蒙古马与温血马相关遗传贡献，并形成了与参考群体不同的祖源组合特征。多种群体遗传分析均显示，白龙驹马兼具蒙古马和温血马的祖源贡献，其整体遗传结构与既定培育路径相吻合。同时表明，白龙驹马在保留群体内遗传多样性的基础上，已呈现可识别且区别于单一亲本群体的遗传结构特征。

2.3 全基因组关联分析与候选区域精细定位分析

以44匹白龙驹马为白毛组、GHRP质控后857匹公共参考个体为对照组，采用SAIGE开展二分类性状全基因组关联分析。通过Manhattan图（图3（a））结果表明，仅在第21号染色体检测到显著峰值，其他染色体未见明显信号，提示该区域可能存在调控该表型的大效应候选位点。进一步精细定位表明，该区域内最显著的变异位点为rs1140980396，位于*SLC45A2*基因内。区域关联散点图（图3（b））中点颜色梯度代表各个变异与lead SNP（rs1140980396）的连锁不平衡（LD，r^2）强度，结果显示最强关联信号位于*SLC45A2*基因第2外显子（exon 2），且区间内多个显著变异与该位点存在较高程度连锁。*SLC45A2*基因轨道图（图3（c））进一步证明GWAS主峰与SLC45A2基因外显子区域重合。

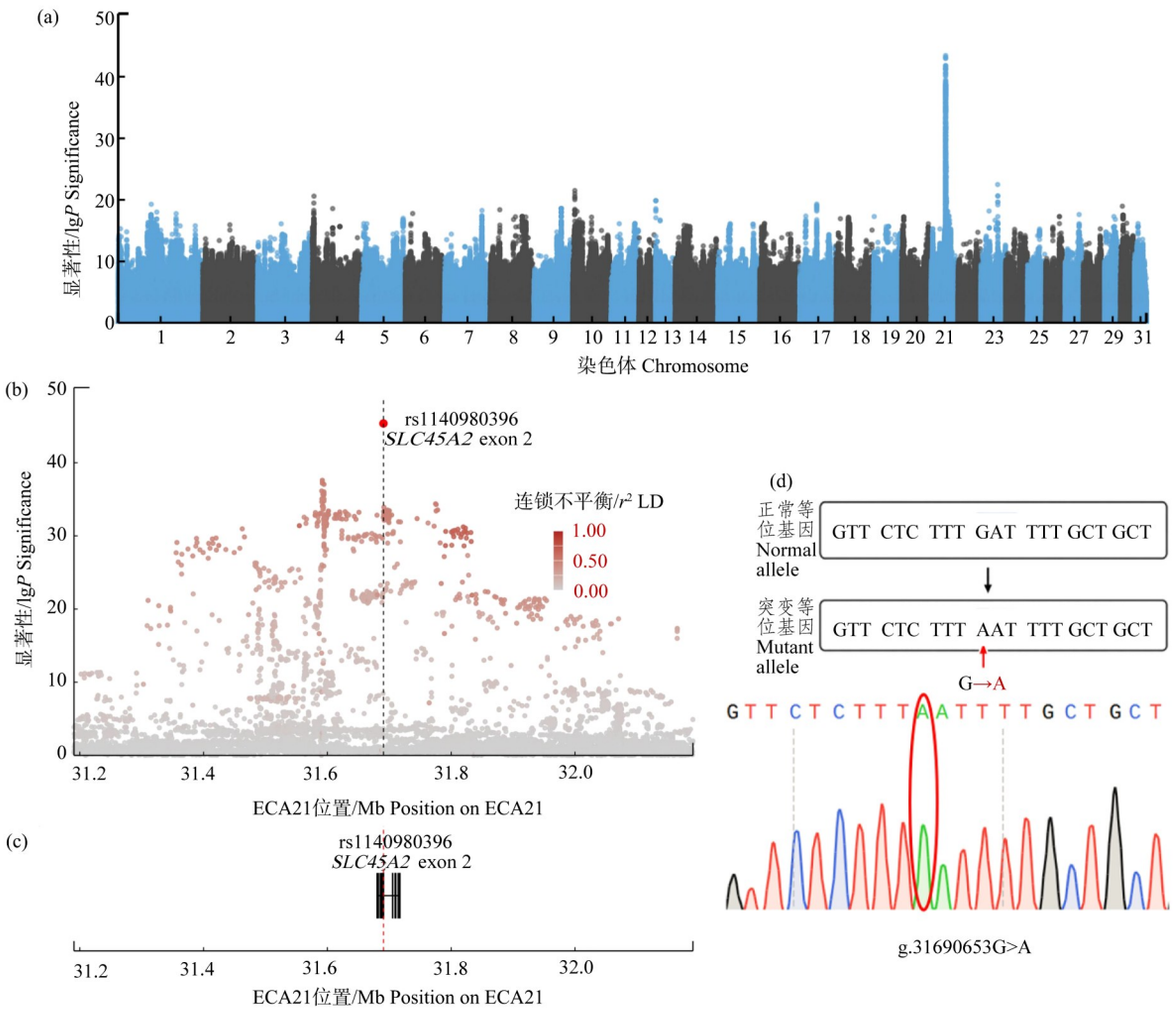
2.4 Sanger测序验证

经OMIA数据库注释，GWAS鉴定的rs1140980396对应OMIA记录OMIA：001344-9796，为*SLC45A2*基因的错义突变（EquCab3.0：NC_009164.3：g. 31690653G>A；转录本XM_001498110.4：c. 601G>A；蛋白水平XP_001498160.2：p.（D201N））。该变异已在Morgan马、Quarter Horse及Welsh Pony等品种中在OMIA中被报道与cream dilution毛色表型相关。当该等位基因呈不完全显性遗传，在双拷贝状态下可降低毛发中真黑素与褐黑素的沉积水平，导致毛色不同程度减淡，在部分个体中甚至呈现接近白色的毛色特征。白龙驹马群体表现出的白色（奶油稀释）毛色表型与该变异已报道的生物学效应较为吻合，提示突变位点可能参与其毛色形成过程。为验证该突变位点的真实性，对白龙驹马样本中包含该位点的基因片段进行PCR扩增与Sanger测序分析。结果显示，随机抽取的10个样本Sanger测序峰图清晰且结果一致，突变坐标与EquCab3.0参考基因组g. 31690653位置对应，确认为目标错义突变（图3（d）），支持该位点在检测样本中的基因型准确性。

3 讨 论

马的毛色不仅是外观性状，部分由色素基因控制的变异具有多效性，除参与色素合成通路外，还涉及神经嵴细胞发育等过程，因此鉴于部分物种中的特定毛色相关变异可能具有多效性，有必要结合健康表型对相关候选变异进行审慎评估[18]。本研究中，白龙驹马各项健康与繁殖指标（血液学、血清生化、冻精质量、眼科专项等）均表现优异，处于正常参考范围。这表明在长期定向选育过程中，不仅成功固定了奶油稀释这一标志性毛色表型，更科学有效地规避了色素基因多效性可能带来的健康风险，展现出该品种极佳的适应性与健康水平，提示黑色素合成效率下降可能是该表型形成的主要机制之一，而*KIT*/*MITF*介导的迁移或发育通路可能并非主导因素，后者在部分突变下可伴随耳聋、致死性发育异常或其他健康问题[4,19]。本研究未观察到白龙驹马白色（奶油稀释）表型伴随健康异常，在当前检测指标范围内，其更可能属于相对中性的色素稀释表型。然而本研究仍存在着局限性：侧重于群体水平的基线健康评估，未针对亚临床病理状态进行特异性筛查，未来研究可扩大样本量，并结合代谢组学与精细化表型测定数据等更全面地评估生理状态对毛色形成和维持的潜在影响。

群体遗传结构分析表明，白龙驹马在长期定向选



（a）GWAS 曼哈顿图。第 21 号染色体检测到最显著的关联信号。（b）*SLC45A2* 区域关联图。颜色表示各位点与 lead SNP rs1140980396 之间的连锁不平衡程度（r^2），颜色越深表示连锁不平衡越强。最显著关联位点为 rs1140980396，位于 SLC45A2 基因外显子区域。（c）*SLC45A2* 基因轨道图。展示候选区域内 *SLC45A2* 基因的结构及其基因组位置，红色虚线表示最显著位点 rs1140980396 在候选区域中的位置。（d）rs1140980396 的 Sanger 测序验证。该位点位于 *SLC45A2* 第 2 外显子，检测到 g. 31690653G＞A 碱基替换，导致密码子由 GAT 变为 AAT，并引起 Asp201Asn（D201N）错义改变。

（a）Manhattan plot of the genome-wide association study（GWAS）. The strongest association signal was detected on chromosome 21.（b）Regional association plot of the *SLC45A2* locus. Colors indicate the degree of linkage disequilibrium（LD，r^2）between each variant and the lead SNP rs1140980396，with darker colors representing stronger linkage disequilibrium. The most significant association signal was rs1140980396，which is located in the exon region of *SLC45A2*.（c）Gene track of the *SLC45A2* locus. The plot shows the gene structure and genomic position of *SLC45A2* within the candidate region，and the red dashed line indicates the position of the most significant variant rs1140980396 within the candidate region.（d）Sanger sequencing validation of rs1140980396. This variant is located in exon 2 of *SLC45A2*. A g. 31690653G＞A substitution was detected，changing the codon from GAT to AAT and resulting in an Asp201Asn（D201N）missense change.

图 3　白龙驹马全基因组关联分析与 Sanger 测序结果

Fig. 3　Genome-wide association analysis and Sanger sequencing validation results of the Bailongju horse

育过程中已形成与参考群体可区分的遗传结构，同时保留蒙古马的部分遗传贡献，与其培育历史相符。在 PCA、NJ 树及 ADMIXTURE 分析中，白龙驹马未与其亲本群体完全混合，而是表现出可识别的独立聚类和遗传结构特征。类似现象在其他杂交选育群体的形成中亦有报道，济州马虽起源于蒙古马且保留其遗传成分，但经长期选育已形成区别于亲本的独立遗传结构[20]。瑞士 Franches-Montagnes 马由本地马与 Anglo-Norman 马杂交培育，也形成稳定且独特的群体遗传结构[21]。上述研究表明，杂交选育群体能够逐渐形成稳定且具有独特遗传特征的新品种。因此，本研究结果表明，白龙驹马以蒙古马和温血马为遗传基础，经长期定向选育，已形成相对独立、可识别的群体遗传结构与稳定培育特征，为其遗传资源保护和新品种

申报提供了基因组学依据。

GWAS分析未检测到*KIT*等经典白色相关基因的显著关联信号，而在*SLC45A2*基因外显子区域鉴定到最显著关联位点rs1140980396。*SLC45A2*是黑色素形成过程中重要的转运蛋白编码基因，参与黑素体内离子和物质转运，调节黑素体pH环境及酪氨酸酶活性，从而影响真黑素和褐黑素的合成与沉积。在小鼠研究发现，该基因特定突变会导致明显的毛色和眼部色素减退[22]。在Baroque donkey关于*SLC45A2*基因的研究中发现突变与cream dilution高度关联，提示马科动物中该基因的色素调控功能可能具有保守性[23]。已有研究证明*SLC45A2*是马白色（奶油稀释）表型的重要功能基因，且主要表现为色素稀释，而非发育缺陷[24-25]。现有*SLC45A2*相关研究多集中于欧美马种，对中国本土品种的遗传基础认识仍较有限，本研究首次在白龙驹马群体中通过GWAS定位出*SLC45A2* rs1140980396与其白色（奶油稀释）毛色表型的显著关联。同时，由于白龙驹马属于正在培育的特色马群体，现有样本数量有限，GWAS分析中白毛组样本量偏小，可能导致统计功效不足，从而限制了对低频变异、微效位点及遗传背景修饰效应的检出能力。但本研究采用表型区分明确的二分类设计，且对照组样本数量充足，有利于检测大效应主效位点。而且在实际GWAS分析中，lead SNP rs1140980396的关联*P*值远低于全基因组显著性阈值，进一步支持其作为大效应候选位点的可靠性。未来仍需进一步扩大白龙驹马样本数量，同时结合其他携带cream等位基因的群体开展跨群体比较分析，以更全面地评估*SLC45A2*变异在不同遗传背景下的效应一致性和遗传贡献。

OMIA数据库注释及Sanger测序验证进一步支持*SLC45A2*基因rs1140980396位点（g.31690653G>A错义突变）是介导白龙驹马白色（奶油稀释）毛色表型的潜在关联位点。已有研究表明，该错义突变可导致cremello和perlino等近白色表型[25]。本研究定位结果与已知功能研究高度一致，为*SLC45A2*作为白龙驹马特色毛色表型候选基因提供了可靠证据。然而，当前结果仅为统计关联，尚需进一步功能验证。未来研究可以进一步结合转录组测序、黑色素细胞培养及功能实验，深入解析该变异导致白龙驹马白色（奶油稀释）表型的分子机制。

4 结 论

本研究主要结论如下：

1）白龙驹马群体整体健康状况良好，在当前检测范围内未观察到与白色（奶油稀释）毛色表型相关的明显群体健康异常，表明其表型更可能源于色素稀释机制，而非典型的病理性白化性状。

2）白龙驹马兼具蒙古马和温血马相关祖源贡献，并呈现可识别的群体遗传结构，与其长期杂交改良和定向选育历史相一致。

3）全基因组关联分析鉴定到21号染色体*SLC45A2*基因外显子区错义突变位点rs1140980396为白龙驹马白色（奶油稀释）毛色表型的显著关联位点；OMIA数据库注释与Sanger测序验证进一步支持该位点（g.31690653G>A）是介导白龙驹马白色（奶油稀释）毛色表型的潜在关联位点，为后续分子机制解析及分子标记辅助选育提供了可靠靶点。

参考文献 References

[1] Thiruvenkadan A K, Kandasamy N, Panneerselvam S. Coat colour inheritance in horses[J]. *Livestock Science*, 2008, 117(2/3): 109-129

[2] Wang F, Ma W, Fan D, Hu J, An X, Wang Z. The biochemistry of melanogenesis: An insight into the function and mechanism of melanogenesis-related proteins[J]. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2024, 11: 1440187

[3] Ohbayashi N, Fukuda M. Recent advances in understanding the molecular basis of melanogenesis in melanocytes[J]. *F1000Research*, 2020, 9: 608

[4] McFadden A, Vierra M, Martin K, Brooks S A, Everts R E, Lafayette C. Spotting the pattern: A review on white coat color in the domestic horse[J]. *Animals*, 2024, 14(3): 451

[5] 刘文艳，李园，蔡永强，张利环，李慧锋，李宏，朱芷葳. 黑色素细胞中MITF相关信号通路调控因子的研究进展[J]. 畜牧与兽医，2017，49(8)：125-128
Liu W Y, Li Y, Cai Y Q, Zhang L H, Li H F, Li H, Zhu Z W. Research progress of the regulators involved in MITF-related signaling pathways in melanocytes[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2017, 49(8): 125-128 (in Chinese)

[6] Holl H M, Pflug K M, Yates K M, Hoefs-Martin K, Shepard C, Cook D G, Lafayette C, Brooks S A. A candidate gene approach identifies variants in SLC45A2 that explain dilute phenotypes, pearl and sunshine, in compound heterozygote horses[J]. *Animal Genetics*, 2019, 50(3): 271-274

[7] Bao M J, Gempeler M, Campiche R. Melanosome transport and processing in skin pigmentation: Mechanisms and targets for pigmentation modulation [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26(17): 8630

[8] McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernytsky A, Garimella K, Altshuler D, Gabriel S, Daly M, DePristo M A. The Genome Analysis Toolkit: A MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data[J]. *Genome Research*, 2010, 20(9): 1297-1303

[9] Global Horse Reference Panel. Global horse reference panel[EB/OL]. [2026-06-26]. http://farmrefpanel.com/GHRP

[10] Chang C C, Chow C C, Tellier L C, Vattikuti S, Purcell S M, Lee J J. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets[J]. *GigaScience*, 2015, 4: 7

[11] Lefort V, Desper R, Gascuel O. FastME 2.0: A comprehensive, accurate, and fast distance-based phylogeny inference program[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2015, 32(10): 2798-2800

[12] Gmel A, Ricard A, Gerber V, Neuditschko M. Population structure and genomic diversity of the Einsiedler horse[J]. *Animal Genetics*, 2024, 55(3): 475-479

[13] Zhou W, Nielsen J B, Fritsche L G, Dey R, Gabrielsen M E, Wolford B N, LeFaive J, VandeHaar P, Gagliano S A, Gifford A, Bastarache L A, Wei W Q, Denny J C, Lin M X, Hveem K, Kang H M, Abecasis G R, Willer C J, Lee S. Efficiently controlling for case-control imbalance and sample relatedness in large-scale genetic association studies[J]. *Nature Genetics*, 2018, 50(9): 1335-1341

[14] Wang H Y, Wang X Y, Yang Y L, Zhu Y X, Wang S Y, Chen Q, Yan D W, Dong X X, Li M L, Lu S X. Genome-wide identification of quantitative trait loci and candidate genes for seven carcass traits in a four-way intercross porcine population[J]. *BMC Genomics*, 2024, 25(1): 582

[15] Nicholas F W. Online Mendelian Inheritance in Animals (OMIA): A comparative knowledgebase of genetic disorders and other familial traits in non-laboratory animals[J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31(1): 275-277

[16] Yates A D, Austine-Orimoloye O, Azov A G, Barba M, Barnes I, Barrera-Enriquez V P, Becker A, Bennett R, Berry A, Bhai J, Bhurji S K, Branco Lins P R, Brooks L, Budhanuru Ramaraju S, Campbell L I, Carbajo Martinez M, Carpenter J, Charkhchi M, Cortes L A, Davidson C, Dickson S, Dodiya K, Donaldson S, El Houdaigui B, El Naboulsi T, Fairbrother-Browne A, Falola O, Fatima R, Gonzalez Martinez J, Gurbich T, Hall H, Hardy M, Hollis Z, Hunt T, Kay M, Kaikala V, Lazar A, Lemos D, Lodha D, Mathlouthi N, Merino G A, Merritt R, Mirabueno L P, Mushtaq A, Nakib Hossain S, Pérez-Silva J G, Piližota I, Poppleton D, Prosovetskaia I, Raj S, Salam A I A, Saraf S, Sinha S, Sipos B, Sitnik V, Suner M M, Surapaneni L, Tierney J A S, Urbina-Gómez D, Veidenberg A, Walsh T A, Allen J M, Alvarez-Jarreta J, Cheema J, Batista da Rocha J, De Silva N H, Tricomi F F, Giorgetti S, Ilsley G R, Keatley J, Loveland J E, Mudge J M, Naamati G, Tate J, Willhoft N L, Winterbottom A, Flint B R, Frankish A, Haggerty L, Hunt S E, Clark E L, Dyer S C, Freeberg M A, Martin F J, Finn R D. Ensembl 2026[J]. *Nucleic Acids Research*, 2026, 54(D1): D1053-D1060

[17] Sanger F, Nicklen S, Coulson A R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1977, 74(12): 5463-5467

[18] Liu X T, Peng Y D, Zhang X H, Wang X R, Chen W T, Kou X Y, Liang H L, Ren W, Khan M Z, Wang C F. Coloration in equine: Overview of candidate genes associated with coat color phenotypes[J]. *Animals*, 2024, 14(12): 1802

[19] McFadden A, Martin K, Foster G, Vierra M, Lundquist E W, Everts R E, Martin E, Volz E, McLoone K, Brooks S A, Lafayette C. 5′ UTR variant in KIT associated with white spotting in horses[J]. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2023, 127: 104563

[20] Srikanth K, Kim N Y, Park W, Kim J M, Kim K D, Lee K T, Son J H, Chai H H, Choi J W, Jang G W, Kim H, Ryu Y C, Nam J W, Park J E, Kim J M, Lim D. Comprehensive genome and transcriptome analyses reveal genetic relationship, selection signature, and transcriptome landscape of small-sized Korean native Jeju horse[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 16672

[21] Gmel A I, Mikko S, Ricard A, Velie B D, Gerber V, Hamilton N A, Neuditschko M. Using high-density SNP data to unravel the origin of the Franches-Montagnes horse breed[J]. *Genetics Selection Evolution*, 2024, 56(1): 53

[22] Le L, Escobar I E, Ho T, Lefkovith A J, Latteri E, Haltaufderhyde K D, Dennis M K, Plowright L, Sviderskaya E V, Bennett D C, Oancea E, Marks M S. SLC45A2 protein stability and regulation of melanosome pH determine melanocyte pigmentation[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2020, 31(24): 2687-2702

[23] Ludwig A, Biermann R, Frölich K, Jandowsky A, Langner C, Lieckfeldt D, Tschann K, Reissmann M. A SLC45A2 mutation is strongly associated with the cream dilution in Baroque donkeys[J]. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtier*, 2025, 53(6): 372-378

[24] Sevane N, Sanz C R, Dunner S. Explicit evidence for a missense mutation in exon 4 of SLC45A2 gene causing the pearl coat dilution in horses[J]. *Animal Genetics*, 2019, 50(3): 275-278

[25] Mariat D, Taourit S, Guérin G. A mutation in the MATP gene causes the cream coat colour in the horse[J]. *Genetics Selection Evolution*, 2003, 35(1): 119-133

责任编辑：秦梅



第一作者简介：谭凝雅，硕士研究生，主要从事马的动物遗传育种研究。



通讯作者简介：王勤，博士，教授，博士生导师，任职于中国农业大学动物科学技术学院伴侣动物科学系。主要从事动物遗传育种、动物福利与健康等领域研究，围绕家畜遗传资源保护与利用、重要性状遗传机制解析及分子育种开展系统研究。主持国家自然科学基金、国家重点研发计划等多项国家级科研项目，参与转基因生物新品种培育等重大专项。获得省部级科技奖励3项、教学成果奖1项。发表多篇学术论文，并获得多项国家发明专利授权。兼任全国畜禽遗传资源委员会委员、中国马业协会育种委员会副主任委员等学术职务，在动物遗传资源保护与马产业发展领域具有较高学术影响力。