

分类号：
学号：20222113022

密级：内部1年
单位代码：10759

石河子大学 硕士学位论文



母猪阴道分泌物在早期妊娠诊断中的应用探究

学位申请人

艾子凯

指导教师

黄涛教授

张永生副教授

刘宏杰畜牧师

申请学位类别

专业硕士

专业名称

农业

研究领域

畜牧

所在学院

动物科技学院

中国·新疆·石河子
2024年6月

分类号：
学号：20222113022

密级：内部1年
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



母猪阴道分泌物在早期妊娠诊断中的应用探究

学位申请人	艾子凯
指导教师	黄涛教授
	张永生副教授
	刘宏杰畜牧师
申请学位类别	专业硕士
专业名称	农业
研究领域	畜牧
所在学院	动物科技学院

中国·新疆·石河子

2024年6月

Application of sow vaginal secretions in early pregnancy diagnosis

A Dissertation Submitted to
Shihezi University
In Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of
Master of Agriculture

By
Zi-kai Ai
(Animal Reproduction)

Dissertation Supervisor:
Prof. Tao Huang
Associate professor Yongsheng Zhang
Animal husbandry division Hongjie Liu

June, 2024
Shihezi, Xinjiang, China

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明



学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：  时间： 2024 年 5 月 14 日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：  时间： 2024 年 5 月 14 日
导师签名：  时间： 2024 年 5 月 14 日

摘要

目的：母猪的早期妊娠诊断不仅关乎单个个体的生产效益，更对整个养殖业的可持续发展具有深远影响。传统的妊娠诊断方法，如触诊、超声检查等，虽然被广泛应用，但存在诊断时间晚、准确率有限等问题。随着生物技术的发展，蛋白组学和代谢组学等高通量技术为早期妊娠诊断提供了新的思路和方法。目前关于母猪早期妊娠诊断的体液研究主要为血液和唾液，但在母猪早期妊娠阶段采血对母猪造成的应激反应较大，而唾液的收集工作又取决于其配合程度。基于此，本研究利用 16SrRNA 初步分析妊娠与非妊娠母猪早期阴道分泌物中菌群差异，利用蛋白组学技术和代谢组学技术对妊娠与非妊娠母猪阴道分泌物进行质谱分析，旨在寻找母猪早期妊娠诊断相关分子标志物。

方法：（1）对母猪全群进行采样，采集配种后第 15 天母猪阴道分泌物，根据第 25 天和第 35 天 B 超结果判断母猪是否妊娠。采集母猪妊娠不同阶段阴道分泌物，运用 16SrRNA 测序技术分析样本中的微生物种类。

（2）用上述样本，利用 4D-Label free 技术对阴道分泌物进行质谱分析，筛选差异表达物并进行验证。

（3）用上述样本，利用 LC-MS 非靶向代谢组学技术对阴道分泌物进行质谱分析，筛选差异表达物并进行验证。

（4）进行蛋白组和代谢组联合分析，筛选潜在生物标志物，并对所筛选蛋白生物标志物在生产中进行应用，利用 ROC 曲线分析筛选分子标志物对母猪进行早期妊娠诊断的可行性。

结果：（1）妊娠母猪较非妊娠母猪菌群丰富度和多样性降低且妊娠与非妊娠母猪阴道分泌物中菌群结构存在明显差异。

（2）利用 4D-Label free 技术在母猪妊娠早期筛选出差异蛋白 47 个，其中上调 22 个蛋白、下调 25 个蛋白。筛选与繁殖相关蛋白 Salivary lipocalin、Mucin5B、cAMP、DEF6，通过 ELISA 技术对质谱结果进行验证，证明 4D-Label free 结果的可信度。

（3）利用 LC-MS 非靶向代谢分析技术筛选妊娠早期差异代谢物，共筛选到差异代谢物 161 个，其中上调 113 个、下调 47 个。

（4）发现 Different metabolites-1 和 Different metabolites-2 可作为母猪早期妊娠诊断的潜在代谢生物标志物。发现候选蛋白生物标志物 Salivary lipocalin、DEF6 和 MUC5AC，可通过 ELISA 技术应用于母猪生产，可以对母猪的早期妊娠诊断，在提高母猪繁殖效率的同时降低了母猪非生产天数。

结论：本研究得到代谢物 Different metabolites-1 和 Different metabolites-2 和蛋白 Salivary lipocalin、DEF6 和 MUC5AC 可以作为母猪早期妊娠诊断生物标志物，所展现妊娠诊断价值可有效提高当前母猪繁殖效率。

关键词：16SrRNA；蛋白组学；代谢组学；差异表达蛋白；妊娠诊断；猪

Abstract

Objective: The early pregnancy diagnosis of sows is not only related to individual production benefits, but also has far-reaching influence on the sustainable development of the whole breeding industry. Although the traditional methods of pregnancy diagnosis, such as palpation and ultrasound, are widely used, there are some problems such as late diagnosis time and limited accuracy. With the development of biotechnology, high throughput techniques such as proteomics and metabolomics provide new ideas and methods for early pregnancy diagnosis. At present, the main body fluid studies on the diagnosis of early pregnancy of sows are blood and saliva. However, blood collection in early pregnancy of sows causes greater stress response to sows, and the collection of saliva depends on the degree of cooperation with them. Based on this, in this study, 16SrRNA was used to preliminarily analyze the difference of flora in early vaginal secretions of pregnant and non-pregnant sows, and proteomics and metabolomics techniques were used to perform mass spectrometry analysis of vaginal secretions of pregnant and non-pregnant sows, aiming to find molecular markers related to the diagnosis of early pregnancy in sows.

Methods: (1) All sows were sampled, vaginal secretions of sows were collected on the 15th day, and pregnancy of sows was determined according to the B-ultrasound results on the 25th and 35th day. The vaginal secretions of sows at different stages of pregnancy were collected and the microbial species in the samples were analyzed by 16SrRNA sequencing technology.

(2) Using the above samples, 4D-Label free technology and mass spectrometry of vaginal secretions were used to screen and verify the differential expressions.

(3) Using the above samples, LC-MS non-targeted metabolomics technology was used for mass spectrometry analysis of vaginal secretions, screening for differential expressions and verification.

(4) Combined analysis of proteome and metabolome was performed to screen potential biomarkers, and the screened protein biomarkers were applied in production. ROC curve was used to analyze the feasibility of screening molecular markers for early pregnancy diagnosis of sows.

Results: (1) The flora richness and diversity of pregnant sows were lower than that of non-pregnant sows, and the flora structure in vaginal secretions of pregnant sows and non-pregnant sows was significantly different.

(2) 47 differential proteins were screened by 4D-Label free technique in early gestation of sows, among which 22 proteins were up-regulated and 25 proteins were down-regulated. The reproduction-related proteins Salivary lipocalin, Mucin5B, cAMP and DEF6 were screened, and the results of mass spectrometry were verified by ELISA technology to prove the reliability of the results of 4D-Label free.

(3) LC-MS non-targeted metabolic analysis was used to screen differential metabolites in early pregnancy, and a total of 161 differential metabolites were screened, of which 113 were up-regulated and 47 were down-regulated.

(4) Different metabolites-1 and Different metabolites-2 were found to be potential metabolic biomarkers for early pregnancy diagnosis in sows. It was found that the candidate protein biomarkers Salivary lipocalin, DEF6 and MUC5AC could be applied in the production of sows by ELISA technology, which could diagnose the early pregnancy of sows, improve the reproductive efficiency of sows and reduce the non-productive days of sows.

Conclusion: In this study, metabolites Different metabolites-1 and Different metabolites-2 and proteins Salivary lipocalin, DEF6 and MUC5AC can be used as biomarkers for the diagnosis of early pregnancy in sows. The demonstrated value of pregnancy diagnosis can effectively improve the reproductive efficiency of current sows.

Key words: 16SrRNA; Proteomics; Metabolomics; Differentially expressed protein; Cyesiognosis; Sow

缩略词

Abbreviation

英文缩写	中文名称	英文全称
AI	人工授精	Artificial insemination
BP	生物过程	Biological Process
CC	细胞组分	Cellular Component
ELISA	酶联免疫吸附法	enzyme linked immunosorbent assay
FC 值	差异倍数阈值	fold-change
GO	GO 富集分析	Gene Ontology
KEGG	KEGG 富集分析	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
Label free	无需标记的蛋白质定量方法	Data independent acquisition
LC-MS	液相色谱-质谱联用仪	Liquid Chromatograph Mass Spectrometer
MF	分子功能	Molecular Function
OPLS-DA	正交偏最小二乘法分析	Orthogonal partial least-squares discrimination analysis
PCA	主成分分析	Principal Components Analysis
PLS-DA	偏最小二乘法分析	partial least squares-discriminate analysis
PLS-DA	偏最小二乘法判别分析	Partial Least Squares Discrimination Analysis
QC	数据质量控制	Quality Control
ROC	受试者工作特征曲线	Receiver Operating Characteristic Curve
VIP	变量权重值	Variable weight value

目录

摘要	I
Abstract	II
Abbreviation	IV
第一章 绪论	1
1.1 研究目的及意义	1
1.2 文献综述	2
1.2.1 母猪阴道分泌物的组成和特性	2
1.2.2 母猪阴道分泌物在繁殖过程中的作用与变化	3
1.2.3 母猪阴道分泌物与早期妊娠的关系	4
1.2.4 阴道分泌物的组学研究方法	4
1.2.5 妊娠诊断方法	7
1.2.6 展望与结论	9
1.2.7 研究内容与技术路线	10
第二章 母猪早期妊娠阴道分泌物菌群结构变化	11
2.1 试验材料	11
2.1.1 试验动物	11
2.1.2 试验动物处理	11
2.1.3 主要试验仪器及耗材	12
2.1.4 样品收集	12
2.2 试验方法	12
2.2.1 16S rRNA 扩增子测序	12
2.2.1.1 基因组 DNA 提取	12
2.2.1.2 PCR 产物的获取	12
2.2.1.3 PCR 产物的混样和纯化	13
2.2.1.4 文库构建和上机测序	14
2.2.2 生物信息分析	14
2.3 结果分析	14
2.3.1 阴道分泌物菌群多样性分析	14
2.3.2 阴道分泌物菌群物种组成	14

2.3.2.1 门水平物种组成	14
2.3.2.2 属水平物种组成	15
2.3.3 差异物种分析	16
2.4 讨论	16
2.5 小结	17
第三章 基于质谱技术分析母猪妊娠早期阴道分泌物中差异表达蛋白和代谢物	18
3.1 材料与方法	18
3.1.1 试验材料	18
3.1.2 试验方法	21
3.2 结果与分析	23
3.2.1 基于 4D-label free 技术蛋白结果分析及验证	23
3.2.2 基于 LC-MS 非靶向代谢组结果分析	32
3.2.2.1 质量控制	32
3.3 讨论	37
3.3.1 基于 4D-Label free 技术的妊娠早期母猪差异表达蛋白分析	37
3.3.2 基于 LC-MS 非靶向代谢组学的妊娠早期母猪差异代谢物分析	39
3.4 小结	39
第四章 多联合分析筛选母猪早期妊娠诊断生物标志物及生产应用分析	41
4.1 材料与方法	41
4.1.1 试验材料	41
4.1.2 试验方法	42
4.2 结果与分析	43
4.2.1 蛋白代谢组联合分析	43
4.2.2 代谢候选生物标志物筛选及分析	46
4.2.3 蛋白候选生物标志物筛选及分析	46
4.2.4 候选蛋白生物标志物在生产中的应用	49
4.3 讨论	51
4.4 小结	52
第五章 结论	53
第六章 论文创新点	54
参考文献	55
作者简介	61
致谢	63
附录	64

第一章 绪论

1.1 研究目的及意义

生猪养殖管理直接关系到猪场的盈利能力，而妊娠诊断是畜牧业中的一个关键环节，它直接影响到生产效率和经济效益^[1]。传统的妊娠诊断方法，如触诊、超声检查等，虽然被广泛应用，但存在诊断时间晚、准确率有限等问题^[2]。随着生物技术的发展，蛋白组学和代谢组学等高通量技术为早期妊娠诊断提供了新的思路和方法。早期妊娠诊断在畜牧业中具有深远的意义^[3]，准确识别母猪的妊娠状态有助于养殖户制定更为合理的饲养管理策略。例如，在确认母猪怀孕后，可以为它们提供更为营养丰富的饲料，确保胎儿的正常发育。据研究，对怀孕的母猪进行适当的营养调整，可以有效提高新生仔猪的存活率^[4]。其次，早期妊娠诊断有助于预防和减少非孕母猪的不必要繁殖，从而降低饲养成本。通过早期诊断，养殖户可以及时发现未能成功怀孕的母猪，并采取相应的措施，如进一步检查和治疗，以优化其繁殖性能。此外，早期妊娠诊断还能为疫苗接种计划提供依据^[5]。例如，某些疫苗需要在怀孕期间避免接种，以免对胎儿造成伤害。通过早期诊断，养殖户可以合理安排疫苗接种时间，确保母猪和胎儿的健康。再者，对于养殖业者而言，尽早确定母猪的妊娠状态有助于预测产仔时间和准备分娩相关事宜。这不仅有助于提高新生仔猪的存活率，还能为养殖户提供更为充裕的时间来应对可能出现的分娩问题。

母猪的早期妊娠诊断不仅关乎单个个体的生产效益，更对整个养殖业的可持续发展具有深远影响。随着养殖技术的进步和规模化养殖的普及，母猪的早期妊娠诊断受到了越来越多的关注。这不仅因为早期诊断可以提早确定母猪是否怀孕，减少空怀期，提高养殖效益，更因为早期诊断有助于及时发现繁殖障碍，减少因疾病或管理不当导致的流产或死胎，从而确保种群健康。据研究，母猪的早期妊娠诊断准确率与后续的生产效益直接相关^[6]。其生产性能与新生仔猪的存活率成正相关。此外，早期妊娠诊断还有助于优化养殖管理。一旦确定母猪怀孕，养殖者可以为其制定更为精细的饲养方案，确保母猪的营养需求得到满足。同时，对于未怀孕的母猪，可以及时采取繁殖干预措施，如配种或治疗，以降低空怀率^[7]。

在母猪的妊娠过程中，第12天和第15天的胚胎处于不同的发育阶段。在第12天，胚胎从球胚期向囊胚期过渡的阶段，并开始着床前的扩张过程^[8]。在这一阶段，胚胎通过分泌特定的信号分子，如雌激素和白细胞介素 1β (IL1B)，与母体的子宫内膜进行沟通，以促进着床和妊娠的维持。这一时间点对于母体识别妊娠状态至关重要，因为它涉及母体对妊

娠的生理反应的调整,包括子宫内膜的准备以接受着床的胚胎。到了妊娠的第15天,胚胎已经完成了扩张,形成了长形胚胎,并且正在积极地与子宫内膜接触和着床^[9]。这个阶段的胚胎已经开始分泌干扰素 γ (IFNG)和其他信号分子,这些分子对调节子宫内膜的局部免疫环境、促进胚胎的进一步发育和维持妊娠至关重要。在这个阶段,胚胎与子宫内膜之间的相互作用变得更加紧密,为接下来的胚胎植入和胎盘形成奠定基础。

目前关于母猪早期妊娠诊断的体液研究主要为血液和唾液,但在母猪早期妊娠阶段采血对母猪造成的应激反应较大,而唾液的收集工作又取决于其配合程度。本研究旨在通过分析母猪阴道分泌物中的蛋白质和代谢物的变化,探索一种在人工授精后第12-18天内准确诊断早期妊娠的新方法。这种方法的开发,旨在提高妊娠诊断的准确性和效率,减少对母猪的干扰,降低成本。

1.2 文献综述

1.2.1 母猪阴道分泌物的组成和特性

1.2.1.1 阴道分泌物的化学组成

阴道分泌物主要由水、盐、有机物和多种微生物组成。其中,糖类物质主要由阴道内的乳酸菌产生,维持阴道内的酸性环境,有助于维持阴道内的生态平衡^[10]。有机物则包括多种酶、激素和细胞因子等,对免疫功能具有重要作用。此外,阴道分泌物中还含有多种微生物,如细菌、病毒和支原体等,这些微生物的存在对阴道的健康也有着重要影响^[11]。通过对阴道分泌物化学组成的研究,可以更深入地了解阴道生态系统的平衡机制,为生殖健康和妇科疾病的研究提供重要依据。

1.2.1.2 阴道分泌物的生物学特性

阴道分泌物,也被称为阴道粘液,是雌性生殖系统中的一种重要物质^[12]。它是由阴道分泌的液体,主要由宫颈腺体、子宫内膜和阴道口的两层细胞分泌。阴道分泌物在维持雌性生殖健康中起着至关重要的作用^[13]。它不仅有助于润滑阴道,保护阴道壁免受损伤,还有助于维持阴道的酸碱平衡,防止感染。同时,阴道分泌物还能起到一定的阻隔作用,防止病原体进入子宫和输卵管。

阴道分泌物的生物学特性与其在雌性生殖系统中的作用密切相关。一方面,阴道分泌物中的多种成分可以协同作用,共同维护生殖道的健康。另一方面,阴道分泌物的量和质会受到多种因素的影响,如激素水平、生殖道炎症等。因此,通过研究阴道分泌物的生物学特性,可以深入了解雌性生殖系统的生理和病理变化,为相关疾病的诊断和治疗提供依据。

在生殖健康领域，阴道分泌物组学研究具有重要的应用价值。通过对阴道分泌物中蛋白质、酶等成分的分析，可以为妇科疾病的诊断提供依据。例如，通过检测阴道分泌物中的特定蛋白质或酶，可以辅助诊断阴道炎、宫颈炎等疾病。其次，阴道分泌物组学研究在性传播疾病的诊断与预防中也具有重要作用。例如，某些性传播疾病的病原体可以在阴道分泌物中检测到，因此对阴道分泌物的检测有助于早期发现和治疗这些疾病。

1.2.1.3 阴道分泌物与生殖健康的关系

阴道分泌物在雌性生殖健康中扮演着重要角色。这些分泌物有助于维持阴道的酸碱平衡，防止感染，并有助于精子通过宫颈。研究发现，阴道分泌物的量和性质可以反映雌性的生殖健康状况。例如，当阴道分泌物出现异常，如量多、颜色改变、有异味等，可能是由于感染、炎症或其他妇科疾病引起的。此外，阴道分泌物还可以作为生殖道感染的标志物，对阴道分泌物的观察和检测对于生殖健康的维护和妇科疾病的诊断具有重要意义。

1.2.2 母猪阴道分泌物在繁殖过程中的作用与变化

母猪阴道分泌物在繁殖过程中发挥着重要作用。激素、免疫因子等物质对于维持母猪生殖健康、促进受精和着床过程具有关键作用。例如，阴道分泌物中的孕酮和雌激素等激素能够调节母猪的生殖道环境，为胚胎提供适宜的着床条件。同时，阴道分泌物中的免疫因子可以帮助母猪抵御病原体的入侵，降低感染的风险。此外，阴道分泌物中的微生物群落也对繁殖过程产生影响，一些有益微生物能够帮助维持生殖道的微生态平衡，提高受孕率。Xupeng Zang^[14]对早期妊娠期间母猪阴道微生物群的动态及其在妊娠发展中的作用进行了探讨，并提出了通过调节阴道微生物群来改善妊娠发展或干预目标结果的见解。

为了更好地了解母猪阴道分泌物在繁殖过程中的作用，研究人员采用了多种分析方法和技術。例如，Moriyoshi^[15]使用牛奶孕酮质量检测 EIA 试剂盒测量母猪唾液中的孕酮水平。研究表明，该方法在妊娠 17-24 天后进行妊娠诊断的准确率为 91.3%。这些分析方法不仅有助于揭示阴道分泌物在繁殖过程中的作用机制，也为早期妊娠诊断提供了新的思路和手段。

在实际应用中，母猪阴道分泌物在早期妊娠诊断中具有显著的优势。阴道分泌物中的生物标志物可以反映母猪的生殖健康状况和胚胎着床情况^[16]，有助于及早发现和解决繁殖障碍问题。其次，通过检测阴道分泌物中的激素和免疫因子水平，可以预测母猪的发情期、排卵时间和最佳配种时机，从而提高受孕率和产仔数。同时，利用基于阴道分

泌物的早期妊娠诊断模型，可以快速、准确地确定母猪是否怀孕，为养殖户提供科学的管理决策依据。

然而，目前母猪阴道分泌物在早期妊娠诊断中的应用仍存在一些局限性。例如，不同品种、年龄和生理状态的母猪阴道分泌物成分存在差异，可能会影响诊断的准确性。此外，由于检测方法和技术手段的限制，一些妊娠相关生物标志物的检测灵敏度和特异性有待提高。因此，未来需要进一步研究母猪阴道分泌物在繁殖过程中的作用机制，提高早期妊娠诊断的准确性和可靠性。

1.2.3 母猪阴道分泌物与早期妊娠的关系

母猪的阴道分泌物因其独特的生物标志物，如激素、免疫因子等，在早期妊娠诊断中具有重要价值。这些生物标志物随着母猪妊娠进程发生变化，可以作为判断母猪是否怀孕的依据。例如，有研究显示，母猪怀孕后，其阴道分泌物中的孕酮和雌二醇水平显著升高，这为早期妊娠诊断提供了依据^[17]。

多项研究探讨了母猪阴道分泌物与妊娠早期的关系，突出了妊娠早期阴道菌群与宿主的相互作用，对妊娠发育起着重要作用。Zang^[14]等人的研究发现，母猪在怀孕早期阴道微生物区系的发育是动态的，同时平衡了纤毛菌和蛋白质杆菌。阴道内特定的微生物群落刺激上皮细胞，导致阴道上皮细胞结构和功能的改变。目前已有研究证实^[18]，通过阴道菌群结构的变化可以对动物发情进行鉴定。这些变化导致促进妊娠发育的特定炎症反应，表明微生物与母猪阴道内宿主之间的关键相互作用，以支持早孕。然而，尽管母猪阴道分泌物在早期妊娠诊断中具有重要价值，但其应用仍存在一定的局限性。例如，分泌物中的生物标志物水平受多种因素的影响，如母猪的健康状况、环境因素等。此外，不同品种、不同年龄的母猪，其阴道分泌物中的生物标志物水平也可能存在差异。因此，在实际应用中，需要综合考虑各种因素，以提高诊断的准确性。

尽管如此，母猪阴道分泌物在早期妊娠诊断中的潜力不容忽视。未来随着技术的进步和研究的深入，我们有望开发出更为准确、便捷的诊断方法。例如，通过高通量测序技术，我们可以更全面地了解母猪阴道分泌物中的生物标志物，从而为早期妊娠诊断提供更为丰富的信息。

1.2.4 阴道分泌物的组学研究方法

1.2.4.1 基因组学在阴道分泌物研究中的应用

基因组学在阴道分泌物研究中的应用已经取得了显著的进展。通过对阴道分泌物的基因组学分析，科学家们可以更深入地了解雌性生殖系统的生理和病理过程。基因组学技术为阴道分泌物研究提供了强大的工具，可以检测和识别与生殖健康问题相关的基因

变异和微生物群落结构。例如，一项研究发现，某些基因变异与阴道炎的发生风险密切相关，这些变异可能影响阴道微生物群的平衡和免疫反应。此外，基因组学还可以用于研究阴道分泌物的微生物群落结构和功能，进一步揭示其在生殖健康中的作用^[19]。通过分析阴道分泌物中的微生物基因组，可以了解微生物群落的组成、多样性和代谢功能，从而为妇科疾病的诊断和治疗提供新的思路和方法。

16S rRNA 测序是一种用于研究微生物群落结构和多样性的分子生物学技术。16S rRNA 是细菌和古细菌细胞中的一个小亚基，其序列在不同的微生物中有一定的保守性和变异性，这使得它成为研究微生物群落的理想标记。阴道微生物群的组成受到多种因素的影响，包括宿主遗传、环境、生理状态等。猪阴道中的细菌群非常丰富^[20]，包括革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌。一些普遍存在的细菌包括乳酸菌、链球菌、葡萄球菌等。这些细菌在阴道内维持酸性环境，对维持正常的阴道微生态平衡起着重要作用。除了细菌以外，阴道中还可能存在酵母菌和真菌。这些微生物在正常情况下可能是阴道微生态的一部分，但在某些情况下，过多的真菌可能导致感染。Wang^[21]等通过对比患有子宫内膜炎和健康母猪的阴道微生物群，发现患病母猪的志贺氏埃希菌属、拟杆菌属、梭杆菌属和 *Clostridium_sensu_stricto_1* 属的丰度高于健康母猪，这表明这些群体的微生物群可能不同。猪阴道微生物群的组成会受到多种因素的影响，包括猪的生理状态、季节、饲养环境、饲养管理等。并且通过 16S rRNA 基因的高通量焦磷酸测序方法评估和比较子宫内膜炎和健康母猪的阴道微生物群，首次证明了母猪的阴道微生物群落，并表明子宫内膜炎影响了母猪的阴道微生物群。Jia Zhang^[22]等通过对 158 个粪便和 50 个阴道样本中使用 16S rRNA 基因测序和代谢组学联合分析，研究了母猪肠道和阴道菌群对母猪断奶后不发情的影响，发现了几种可能影响断奶母猪发情的微生物。在最近的一项研究中，André P. Poor^[23]等通过对健康母猪和外阴流脓母猪的阴道微生物群进行对比分析，推测母猪外阴流脓的可能原因与特定物质相对丰度的增加以及潜在致病菌之间的关联有关。这一发现为进一步研究母猪生殖系统疾病的发生机制提供了新的思路。

以上研究表明，16S rRNA 测序技术在母猪阴道分泌物菌群研究中有广泛应用，有助于揭示菌群在母猪健康、繁殖和代谢调控中的关键作用。

1.2.4.2 蛋白质组学在阴道分泌物研究中的应用

蛋白质组学在阴道分泌物研究中的应用已经取得了显著的进展。通过对阴道分泌物中的蛋白质进行定性和定量分析，可以深入了解雌性生殖系统的生理和病理状态。例如，通过蛋白质组学研究发现，某些蛋白质在特定妇科疾病中的表达水平会发生显著变化。Klein, L^[24]等使用无需预分离的液相色谱和串联质谱（shotgun 蛋白质组学）分析了晚期妊娠女性的阴道液。该研究在阴道液样本中重现识别出 40 多种蛋白质，包括血浆蛋白、上皮结构蛋白和几种免疫调节蛋白，其中一些已与羊膜内感染相关联。Shaw, J^[25]等人通