

林甸鸡绿壳蛋、隐性白、快慢羽性状的遗传基础分析*

张元良^{1,2,3}, 王志鹏^{1,2,3}, 邱家维^{1,2,3}, 冷 丽^{1,2,3}, 李玉茂^{1,2,3}, 曹志平^{1,2,3}, 李 辉^{1,2,3**}

(1.农业部鸡遗传育种重点实验室 黑龙江哈尔滨 150030 ;

2.黑龙江省普通高等学校动物遗传育种与繁殖重点实验室 黑龙江哈尔滨 150030 ;

3.东北农业大学动物科学技术学院 黑龙江哈尔滨 150030)

摘 要 :试验旨在研究影响绿壳蛋、隐性白和快慢羽性状的*SLCO1B3*、*TYR*和*K*基因型在林甸鸡群中的分布情况。通过PCR和电泳技术分别对影响林甸鸡绿壳蛋、隐性白和快慢羽性状的*SLCO1B3*、*TYR*和*K*基因突变位点进行分型工作 发现产绿壳蛋的林甸鸡携带*SLCO1B3-O*等位基因 *SLCO1B3-OO*型占12.5% *SLCO1B3-Oo*型占87.5% 林甸鸡中白羽个体基因型为*TYR-cc* , 非白羽个体中有19.3%的鸡携带*TYR-c*等位基因 基因型为*TYR-Cc* ;在林甸鸡中检测到慢羽型鸡占7.8% ,快羽型鸡占92.2%。通过追溯试验群体的系谱结构 发现影响林甸鸡绿壳蛋性状*SLCO1B3*基因、隐性白性状的*TYR*基因和快慢羽性状的*K*基因的突变位点在上下代传递过程中符合孟德尔遗传规律。

关键词 林甸鸡 ;*SLCO1B3*基因 ;*TYR*基因 ;*K*基因

中图分类号 S831.2

文献标识码 :A

文章编号 :1004-6364(2015)17-05-07

Genetic Analyses on Blue Eggshell, Recessive White and Feathering Rate Traits in Lindian Chicken Population*

ZHANG Yuanliang^{1,2,3}, WANG Zhipeng^{1,2,3}, QIU Jiawei^{1,2,3}, LENG Li^{1,2,3},

LI Yumao^{1,2,3}, CAO Zhiping^{1,2,3}, LI Hui^{1,2,3**}

(1.Key Laboratory of Chicken Genetics and Breeding ,

Ministry of Agriculture ,Harbin ,Heilongjiang 150030 ;

2.Key Laboratory of Animal Genetics ,Breeding and Reproduction ,
Education Department of Heilongjiang Province ,Harbin ,Heilongjiang 150030 ;

3.College of Animal Science and Technology ,
Northeast Agricultural University ,Harbin ,Heilongjiang 150030)

Abstract :The blue eggshell ,recessive white and feathering rate traits are genetically controlled by three different

收稿日期 2015-04-29

修回日期 2015-05-06

*基金项目 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-42) ;黑龙江省 两大平原 改革试验农业重点项目(2014) ;黑龙江省畜禽良种化工程项目(2011-2012) ;黑龙江省高等学校科技创新团队建设项目(2010td02)

**通讯作者 E-mail :lihui@neau.edu.cn

genes of *SLCO1B3*, *TYR* and *K* respectively. The Lindian chicken is a local breed in Lindian county, Heilongjiang province (northeastern part of China). The aim of this study was to evaluate the genotype distribution of these three genes in Lindian chicken population, respectively. The genotypes of *SLCO1B3*, *TYR* and *K* genes were checked directly by PCR and electrophoresis method. We found chickens producing blue eggshell carried O allele of *SLCO1B3* gene, where genotypes OO and Oo accounted for 12.5% and 87.5%, respectively. Genotypes of individuals with white feather were recessive type *TYR*-Cc. Carriers of allele c of *TYR* gene had *TYR*-Cc genotype accounting for 19.3% of Lindian chickens with non-white feather. The birds of the slow- and fast-feathering types accounted for 7.8% and 92.2%, respectively. By tracing the pedigree relationship between all experimental birds, we found that the alleles of *SLCO1B3*, *TYR* and *K* genes were transmitted conforming to the law of Mendelian inheritance.

Key words Lindian chicken; *SLCO1B3* gene; *TYR* gene; *K* gene

林甸鸡是我国优良地方鸡种之一,原产于黑龙江省林甸县(北纬46°44'~47°29'、东经124°18'~125°21'),是黑龙江省唯一列入1988年《中国家禽品种志》的地方鸡种,并于2014年列入国家畜禽遗传资源保护名录。林甸鸡羽色以深麻黄、浅麻黄为主,亦有黑色、芦花、白色等颜色,单冠居多,少数个体为玫瑰冠,部分个体生有羽冠或胡须。胫较细,以青色居多,少数呈黑色或褐色,部分个体有胫羽^[1]。林甸鸡具有肉质鲜美、蛋质优良、适应性强等特点。

鸡蛋壳颜色是重要的蛋用性状,一直备受关注。Punnett^[2]认为鸡的绿壳性状是1号染色体上显性绿壳基因(*Oocyan*, O)作用的结果。Bartlett等^[3]将鸡的绿壳基因(O)定位于1号染色体短臂上,它与内源病毒因子(*ev1*)及豆冠位点(P)连锁。它们在染色体上的排列顺序为P-*ev1*-O,遗传距离分别为4.1 cM(P与O之间)和1.8 cM(*ev1*与O之间)。Bitgood等^[4]进一步验证了Bartlett^[3]等的结论。Wang等^[5]发现鸡的绿壳性状是由有机阴离子转运多肽1B3基因(*Solute carrier organic anion transporter family member 1B3*, *SLCO1B3*,位于1号染色体65319441~65338450 bp)5'侧翼区插入鸟类逆转录酶病毒(EAV-HP,长度为4.2 kb)所造成。当EAV-HP插入到*SLCO1B3*的5'侧翼区后,导致*SLCO1B3*基因在子宫部特异表达,从而使蛋壳颜色表现为绿壳。

鸡的羽色具有多样性,是品种的一个重要特征。在鸡中,白羽性状与常染色体上两个基因座位有关,其中之一是显性白基因座位I^[6,7],另一个是隐性白基因座位C^[7,8]。Brumbaugh等^[8]和Smyth等^[7]报道,酪氨酸酶基因(*Tyrosinase*,

TYR)影响隐性白性状。*TYR*基因位于1号染色体187076241~187126018 bp,是一种氧化酶,用于控制黑色素的生成。Chang等^[9]通过对隐性白羽鸡与野生型对照组*TYR*基因的序列研究,发现该基因的突变是由于在第四内含子存在一段大小为7.7 kb的插入而引起。序列分析发现这个7.7 kb的插入片段与鸟类白血病内源性病毒*ev-1*序列具有99%相似性。

雏鸡初生时,主翼羽长于覆主翼羽者为快羽,主翼羽长度等于或短于覆主翼羽者为慢羽^[10]。Serebrovsky^[11]首次报道初生雏鸡羽毛生长速度快慢属于遗传性状,且是由位于性染色体上的等位基因决定的。Hertwig^[12,13]将野生型的快羽基因定义为*k*,突变型慢羽基因定义为*K*,慢羽基因(*K*)对快羽基因(*k*)为显性。Bacon等^[10]首次在DNA水平上证实了慢羽基因*K*与内源性病毒*ev21*因子紧密连锁,*ev21*的插入造成雏鸡羽毛生长速度缓慢。众多研究表明,*ev21*的整合插入是导致慢羽表型的主要因素^[14]。

本研究检测了林甸鸡群中影响绿壳蛋性状*SLCO1B3*、隐性白性状*TYR*和快慢羽性状*K*基因等位基因的基因型情况及其遗传规律,以期为林甸鸡保种及新品系培育提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

本研究对黑龙江省林甸鸡原种场2011~2013三个世代926只林甸鸡进行了基因型检测。其中2011世代321个个体,2012世代355个个体,2013世代250个个体。

本研究同时选取来自华南农业大学张细权教授馈赠的隐性白鸡基因组公、母各5份,快、慢羽

公鸡基因组各5份分别作为白羽性状和快慢羽性状基因检测的阳性对照。

1.2 血样采集与DNA提取

翅下静脉采血, EDTA_{N_a}抗凝。标准酚-氯仿法提取DNA, 0.8%琼脂糖凝胶电泳检测DNA质量, Eppendorf D30测定DNA浓度, 并调浓度至50 ng/μL, 4℃储存备用。

1.3 引物设计

参照Wang^[5]、Chang^[9]、韩瑾润^[15]分别报道的*SLCO1B3*、*TYR*和*K*基因的引物序列合成相关引物, 以上所有引物均由上海英骏公司合成。

1.4 PCR扩增

1.4.1 影响绿壳蛋性状*SLCO1B3*基因的PCR扩增反应体系

用10.0 μL反应体系完成PCR扩增试验, 该体系包括1.0 U Taq DNA聚合酶、1.0 μL 10×buffer、50 ng模板DNA、3条引物各3.0 pmol/L、4种dNTP各2.0 μmol/L, 按照如下程序进行PCR扩增: 94℃预变性5 min; 95℃ 30 s, 适宜退火温度30 s, 72℃ 20 s, 共计36个循环; 72℃延伸5 min, PCR扩增产物4℃保存待用。1.5%琼脂糖凝胶电泳直接检测PCR产物, 确定基因型。

1.4.2 影响隐性白性状*TYR*基因的PCR扩增反应体系

用10.0 μL反应体系完成PCR扩增试验, 该体系包括1.0 U Taq DNA聚合酶、1.0 μL 10×buffer、50 ng模板DNA、3条引物各3.0 pmol/L、4种dNTP各2.0 μmol/L, 按照如下程序进行PCR扩增: 95℃预变性3 min; 95℃ 30 s, 适宜退火温度30 s, 72℃ 1 min, 共计35个循环; 72℃延伸5 min, PCR扩增产物4℃保存待用。1.5%琼脂糖凝胶电泳直接检测PCR产物, 确定基因型。

1.4.3 影响快慢羽性状的*K*基因的PCR扩增反应体系

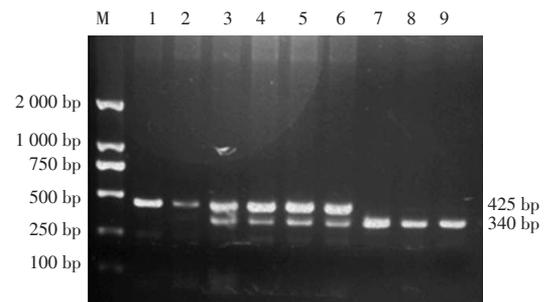
用10.0 μL反应体系完成PCR扩增试验, 该体系包括1.0 U Taq DNA聚合酶、1.0 μL 10×buffer、50 ng模板DNA、3条引物各3.0 pmol/L、4种dNTP各2.0 μmol/L, 按照如下程序进行PCR扩增: 94℃预变性5 min; 94℃ 30 s, 适宜退火温度30 s, 72℃ 40 s, 共计34个循环; 72℃延伸15 min, 20℃延伸10 min, PCR扩增产物4℃保存待用。1.5%琼脂糖凝胶电泳直接检测PCR产物, 确定基

因型。

2 结果

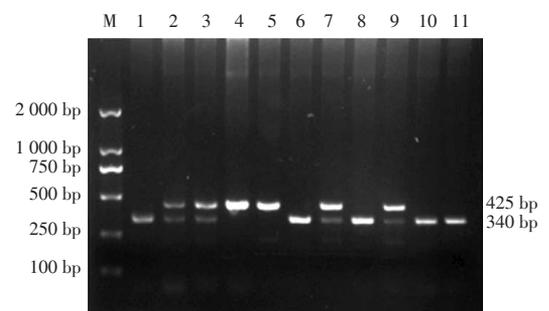
2.1 影响林甸鸡绿壳蛋性状*SLCO1B3*基因等位基因检测

本研究在2011~2013世代的林甸鸡群中选取了136只产绿壳蛋母鸡, 12只产非绿壳蛋母鸡以及130只公鸡用于基因型检测。*SLCO1B3*基因PCR产物的凝胶电泳检测结果见图1、2, 其中仅有425 bp条带者为绿壳纯合子, 记为OO; 显示425 bp和340 bp条带者为绿壳杂合子, 记为Oo; 仅有340 bp条带者为非绿壳蛋纯合子, 记为oo。130只林甸鸡公鸡中有9只个体的基因型为*SLCO1B3*-OO, 占6.9%; 66只个体的基因型为*SLCO1B3*-Oo, 占50.8%; 55只个体的基因型为*SLCO1B3*-oo, 占42.3%。在136只产绿壳蛋的林甸鸡母鸡中, 17只个体的基因型为*SLCO1B3*-OO, 占12.5%; 119只个体的基因型为*SLCO1B3*-Oo, 占87.5%。从携带*SLCO1B3*-OO型、*SLCO1B3*-Oo型和*SLCO1B3*-oo型的林甸鸡中分别随机抽取2只, 对每个鸡只的*SLCO1B3*基因的PCR扩增产物不同片段回收测序, 结果正确。



注: M. DL2000 Marker; 1、2. OO型; 3~6. Oo型; 7~9. oo型

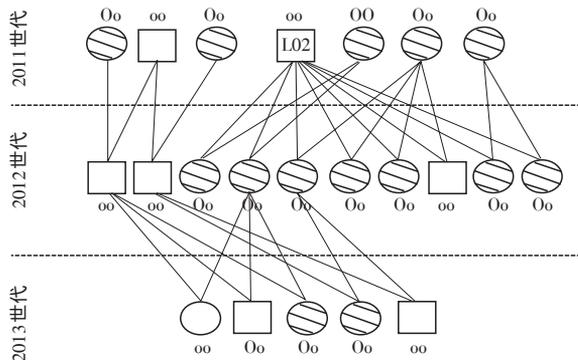
图1 林甸鸡公鸡*SLCO1B3*基因PCR产物电泳结果



注: M. DL2000 Marker; 1、5. OO型; 2、3、7、9. Oo型; 4、6、8、10、11. oo型

图2 林甸鸡母鸡*SLCO1B3*基因PCR产物电泳结果

2011 世代选取 40 只产绿壳蛋的母鸡组建了 4 个公鸡家系,公、母比为 1:10。之后经过检测发现 2011 世代所测 40 只母鸡携带 *SLCO1B3*-O 等位基因,所测 4 只公鸡不携带 *SLCO1B3*-O 等位基因;2012 世代和 2013 世代携带 *SLCO1B3*-O 等位基因的鸡只共 171 只(其中公鸡 75 只,母鸡 96 只),这些鸡只全部是 2011 世代携带 *SLCO1B3*-O 等位基因个体的后代。图 3 为林甸鸡 *SLCO1B3* 等位基因(O 或 o)在 L02 公鸡家系的遗传传递情况。在 2011 世代,L02 公鸡(oo 型)与 OO 型母鸡交配,所测后代(2012 世代)基因型为 Oo 型;与 Oo 型母鸡交配,所测后代(2012 世代)基因型为 Oo 型或 oo 型。在 2012 世代,L02 公鸡后代留种母鸡(Oo 型)与 oo 型公鸡(亲本为 Oo 或 oo 型)交配,所测后代个体的基因型为 Oo 或 oo(见图 3)。其余家系 *SLCO1B3* 等位基因的传递情况类似。*SLCO1B3* 基因等位基因的遗传传递情况符合孟德尔遗传规律。



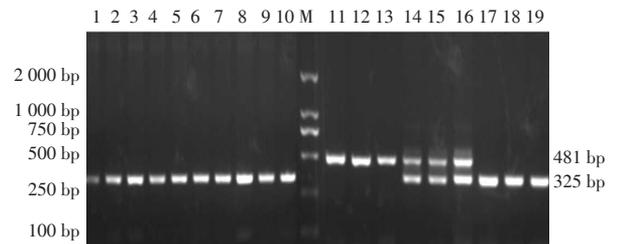
注:圆形为母鸡,方形为公鸡,圆形里面含有斜线表示该个体产绿壳蛋,空白表示该个体产非绿壳蛋,字母表示该个体的基因型。

图 3 林甸鸡 *SLCO1B3* 基因等位基因在 L02 公鸡家系遗传传递结构

2.2 影响林甸鸡隐性白性状 *TYR* 基因等位基因检测

本研究选取 2011~2013 三个世代共计 926 只林甸鸡个体(包括 72 只白羽林甸鸡,854 只非白羽林甸鸡)用于 *TYR* 基因型检测。*TYR* 基因 PCR 产物凝胶电泳检测结果见图 4,其中仅有 481 bp 条带者为野生型纯合子,记为 CC,这些鸡羽毛颜色不显现白色;显示 481 bp 和 325 bp 条带者为隐性白杂合子,记为 Cc,这些鸡羽毛颜色不显现白色;仅有 325 bp 条带者为隐性白纯合子,记为 cc,这些鸡羽毛颜色为白色。在林甸鸡群中,72 只表现为白羽个体的基因型全部为 *TYR*-cc;在 854 只非白羽个体中,165 只个体的基因型为

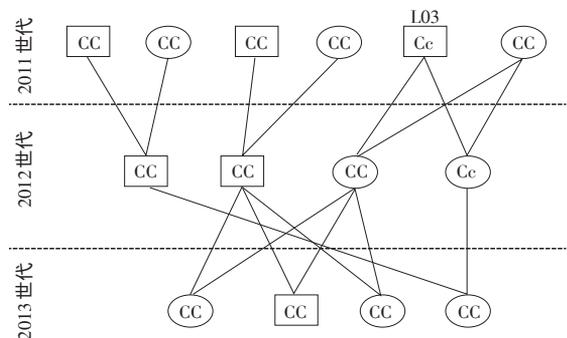
TYR-Cc(占 19.3%),689 个个体的基因型为 *TYR*-CC(占 80.7%)。从携带 *TYR*-CC 型、*TYR*-Cc 型和 *TYR*-cc 型的林甸鸡中分别随机抽取 2 只,对每个鸡只的 *TYR* 基因的 PCR 扩增产物不同片段回收测序,结果正确。



注:M,DL2000 Marker;1~10,阳性对照鸡 cc 型;11~13,林甸鸡 CC 型;14~16,林甸鸡 Cc 型;17~19,林甸鸡 cc 型。

图 4 林甸鸡及阳性对照鸡只 *TYR* 基因 PCR 产物电泳结果

2011 世代共检测了 321 只鸡,其中 82 只(公鸡 30 只,母鸡 52 只)携带 *TYR*-c 等位基因;2012 世代共检测了 355 只鸡,其中 67 只(公鸡 33 只,母鸡 34 只)携带 *TYR*-c 等位基因;2013 世代共检测了 250 只鸡,其中 88 只(公鸡 51 只,母鸡 37 只)携带 *TYR*-c 等位基因。2012 和 2013 世代携带 *TYR*-c 等位基因的鸡只全部是 2011 世代携带 *TYR*-c 等位基因个体的后代。在 2011 世代,L03 公鸡(Cc 型)与 CC 型母鸡交配,所测后代(2012 世代)基因型为 CC 型或 Cc 型。在 2012 世代,L03 公鸡后代留种母鸡(CC 型)与 CC 型公鸡(亲本为 CC 型)交配,所测后代个体基因型为 CC;L03 公鸡的留种母鸡(Cc 型)与 CC 型公鸡(亲本为 CC 型)交配,所测后代个体基因型为 CC(见图 5)。其余家系 *TYR* 等位基因的传递情况类似。*TYR* 基因等位基因的遗传传递情况符合孟德尔遗传规律。

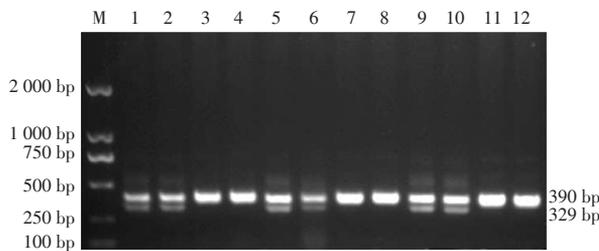


注:圆形为母鸡,方形为公鸡,字母表示该个体的基因型。

图 5 林甸鸡 *TYR* 基因等位基因在 L03 公鸡家系遗传传递结构

2.3 影响林甸鸡快慢羽性状K基因等位基因检测

本研究选取2011~2013三个世代共计854只林甸鸡(其中公鸡373只,母鸡481只)个体用于快慢羽检测。所采用的PCR检测方法只能判定所测个体Z染色体上是否携带 $ev21$ 插入片段。若携带 $ev21$ 插入,则为慢羽型鸡只(Z^kZ^k 或 Z^kZ^+ 或 Z^kW 型);若不携带 $ev21$ 插入,则为快羽型鸡只(Z^+Z^+ 或 Z^+W 型)。对于母鸡而言,其基因型与表现型一一对应,但对于公鸡而言,慢羽型个体的基因型可能是 Z^kZ^k 或 Z^kZ^+ [16]。K基因PCR产物凝胶电泳检测结果见图6,其中显示390 bp和329 bp条带者为慢羽,仅有390 bp条带者为快羽[16]。在检测的林甸鸡群中,67个个体为慢羽型(其中公鸡40只,母鸡27只),占7.8%;787个个体为快羽型(其中公鸡333只,母鸡454只),占92.2%。从携带K等位基因的慢羽型和k等位基因的快羽型林甸鸡中分别随机抽取2只,对每个鸡只的K基因的PCR扩增产物不同片段回收测序,结果正确。

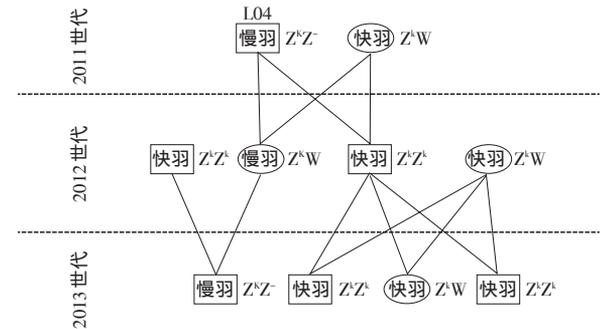


注 M. DL2000 Marker 1,2. 阳性对照 Z^+Z^+ 型 3,4. 阳性对照 Z^kZ^k 型 5,6. 林甸鸡 Z^+W 型 7,8. 林甸鸡 Z^kW 型 9,10. 林甸鸡 Z^+Z^+ 型 11,12. 林甸鸡 Z^kZ^+ 型。

图6 林甸鸡及阳性对照鸡只K基因PCR产物电泳结果

在2011世代共检测了321只鸡,其中36只(公鸡25只,母鸡11只)为携带K等位基因的慢羽型个体;2012世代共检测了355只鸡,其中23只(公鸡8只,母鸡15只)为携带K等位基因的慢羽型个体;2013世代共检测了178只鸡,其中8只(公鸡7只,母鸡1只)为携带K等位基因的慢羽型个体。2012和2013世代携带K等位基因的鸡只全部是2011世代携带K等位基因个体的后代。在2011世代,L04慢羽公鸡(Z^kZ^+ 型)与快羽母鸡(Z^+W 型)交配,所测后代为慢羽母鸡(Z^kW 型)和快羽公鸡(Z^+Z^+ 型)。在2012世代,L04公鸡的留种母鸡(Z^+W 型)与快羽型公鸡(Z^+Z^+ 型)交配,所测后代为慢羽公鸡(Z^+Z^+ 型);L04公鸡的留种公鸡(Z^kZ^+ 型)与快羽型母鸡(Z^+W 型)交配,所测后代为

快羽型公鸡(Z^+Z^+ 型)或母鸡(Z^+W 型),结果见图7。其余家系携带K等位基因的个体传递情况类似。K基因等位基因的遗传传递情况符合孟德尔遗传规律。



注 圆形为母鸡,方形为公鸡。

图7 林甸鸡K基因在L04公鸡家系遗传传递结构

3 讨论

作为我国北方地区特有的地方品种,林甸鸡具有优良的生产性能和较好的耐寒、抗病能力。在对林甸鸡生产性能进行保种及选育开发时,也应注意对一些重要的质量性状,如外貌性状、蛋壳颜色等性状开展选育提纯工作。本研究利用已经成熟的分子诊断方法,分别检测林甸鸡群中影响绿壳蛋、隐性白和快慢羽性状的 $SLCO1B3$ 、 TYR 和K基因,以便为林甸鸡后期的保种和选育开发提供依据。

3.1 影响绿壳蛋的SLCO1B3基因

绿壳蛋因外形美观,因而具有较好的市场前景[17]。由于蛋壳颜色是一类限性性状,且影响绿壳蛋性状的O基因是显性遗传,利用常规育种方法培育绿壳蛋品系时,选育周期较长。目前,已经发现了影响绿壳蛋性状的分子标记 $SLOC1B3$ 基因,该基因可以准确的区分蛋壳颜色是否为绿色[5]。

本研究利用Wang等[5]提出的方法检测了136只产绿壳蛋林甸鸡母鸡 $SLCO1B3$ 基因等位基因型,结果表明,所检测的林甸鸡产绿壳蛋个体全部携带 $SLCO1B3-O$ 等位基因,其中 $SLCO1B3-OO$ 型个体占12.5%, $SLCO1B3-Oo$ 型占87.5%。在随机交配群体中,针对绿壳蛋应该存在9种交配方式: $SLCO1B3$ 基因OO型公鸡与 $SLCO1B3$ 基因OO或Oo或oo型母鸡交配; $SLCO1B3$ 基因Oo型公鸡与 $SLCO1B3$ 基因OO或Oo或oo型母鸡交配; $SLCO1B3$ 基因oo型公鸡与 $SLCO1B3$ 基因OO或Oo或oo型

母鸡交配。在本研究中,通过追溯试验群体的系谱关系,发现本群体中不存在其中3种组合方式,分别是 *SLCO1B3* 基因 OO 型公鸡与 *SLCO1B3* 基因 OO 或 Oo 或 oo 型母鸡交配。本研究检查了 *SLCO1B3* 基因等位基因在连续3个世代的遗传传递规律,发现本研究群体的2012世代和2013世代携带 *SLCO1B3*-O 等位基因个体全部来源于2011世代的40只母鸡(OO 或 Oo 型)。Wang 等^[5]对12个鸡种 *SLCO1B3* 基因等位基因型进行了检测,发现产绿壳蛋的东乡绿壳蛋鸡、卢氏鸡和 Araucana 鸡全部携带 *SLCO1B3*-O 等位基因,红原鸡、北京油鸡、丝羽乌骨鸡、藏鸡、鲁西斗鸡、固始鸡、矮小型鸡、洛岛红鸡和白来航不携带 *SLCO1B3*-O 等位基因。在其检测群体中,东乡绿壳蛋鸡产绿壳蛋个体中 *SLCO1B3*-OO 型占 90.1%, *SLCO1B3*-Oo 型占 9.9%; 卢氏鸡产绿壳蛋个体中 *SLCO1B3*-OO 型占 70.0%, *SLCO1B3*-Oo 型占 30.0%; Araucana 鸡产绿壳蛋个体中 *SLCO1B3*-OO 型占 62.5%, *SLCO1B3*-Oo 型占 37.5%^[5]。上述3个鸡种,针对绿壳蛋性状进行了多年的选育,群体中 *SLCO1B3*-OO 基因型频率较高。林甸鸡群中存在产绿壳蛋的鸡只,在后期育种过程中,可以利用上述分子标记方法快速提高 *SLOCIB3*-OO 基因型频率,加快绿壳蛋性状的提纯速度。

3.2 影响隐性白性状的 *TYP* 基因

隐性白羽鸡在优质鸡配套系的应用是我国家禽育种工作的一项重大突破,对我国优质肉鸡产业的发展起到了巨大的推动作用^[18]。目前,在优质鸡生产上发挥作用的隐性白羽鸡主要有两种类型:一是我国著名地方良种白羽丝毛乌骨鸡;另一类是洛克型隐性白羽鸡。传统育种方法需要通过测交等方法确定鸡只是否携带隐性白基因。目前,已经开发出了鉴定隐性白基因的分子诊断方法。

本研究利用 Chang 等^[9]提出的方法检测了 926 只林甸鸡 *TYR* 基因等位基因型。结果表明,所检测的 72 只白羽林甸鸡基因型全部为 *TYR*-cc; 854 只非白羽个体中 *TYR*-Cc 型个体占 19.3%, *TYR*-CC 型个体占 80.7%。在随机交配群体中,针对隐性白应该存在 9 种交配方式: *TYR*-CC 型公鸡与 *TYR*-CC 或 -Cc 或 -cc 型母鸡交配; *TYR*-Cc 型公鸡与 *TYR*-CC 或 -Cc 或 -cc 型母鸡交配; *TYR*-cc 型公鸡与 *TYR*-CC 或 -Cc 或 -cc 型母鸡交配。在本研究

中,通过追溯试验群体的系谱关系,发现本群体中不存在其中5种组合方式,分别是 *TYR*-CC 或 -Cc 或 -cc 型公鸡与 *TYR*-cc 型母鸡交配以及 *TYR*-cc 型公鸡与 *TYR*-CC 或 -Cc 型母鸡交配。本研究检查了 *TYR* 基因等位基因在连续三个世代的遗传传递规律,发现本研究群体的2012世代和2013世代携带 *TYR*-c 等位基因个体全部来源于2011世代的82只鸡(Cc 型)。Chang 等^[9]选取了161只法国慢生型商品肉鸡(非白羽)个体对 *TYR* 基因等位基因进行检测,发现其中23只鸡为 *TYR*-Cc 型,占 14.3%, 138 只鸡为 *TYR*-CC 型,占 85.7%。许继国等^[19]报道黄麻鸡 *TYR*-Cc 型频率在 15%~20% 之间,沙栏鸡 *TYR*-Cc 型频率为 7%,杏花鸡 *TYR*-Cc 型频率为 0.5%。综合上述结果来看,多个中国地方鸡种携带 *TYR*-c 等位基因, c 等位基因频率在各品种间分布存在差异。在林甸鸡后期开发利用中,如需要,可以建立白羽林甸鸡品系,以期构建相应配套系。

3.3 影响快慢羽性状的 *K* 基因

羽速在鸡育种中具有极大的实用价值,主要用于雏鸡的性别鉴定。国内外众多育种者育成了许多利用羽速自别雌雄的品系(配套系),如海兰鸡、罗曼蛋鸡、伊莎 B-380 褐壳蛋鸡、星红褐蛋鸡、明星肉鸡、武定鸡、长沙黄鸡、固始鸡、农大褐蛋鸡、隐性白羽肉鸡等^[20]。目前,运用分子方法鉴别鸡的羽速类型大多是检测 *ev21* 插入片段的存与否^[21]。

本研究利用韩瑾润^[15]的引物检测了林甸鸡快慢羽分布情况。结果表明,所检测 854 个个体中慢羽型(Z^kZ 或 Z^kW)鸡只占 7.8%,快羽型(Z^kZ^k 或 Z^kW)鸡只占 92.2%。在随机交配鸡群中,针对快慢羽表型应该存在 4 种交配方式:快羽公鸡(Z^kZ^k 型)与快羽母鸡(Z^kW 型);快羽公鸡(Z^kZ^k)与慢羽母鸡(Z^kW 型);慢羽公鸡(Z^kZ 型)与慢羽母鸡(Z^kW 型);慢羽公鸡(Z^kZ 型)与快羽母鸡(Z^kW 型)。在本研究中,通过追溯试验群体的系谱关系,发现本群体中不存在第三种组合方式(慢羽公鸡 Z^kZ 型与慢羽母鸡 Z^kW 型)。本研究检查了 *K* 基因等位基因在连续3个世代的遗传传递规律,发现2012世代和2013世代携带 *K* 等位基因 31 只慢羽型个体(Z^kZ^k 或 Z^kZ^k 或 Z^kW 型)全部来源于2011世代的36只慢羽型个体(Z^kZ^k 或 Z^kZ^k 或 Z^kW 型)。宋素芳

等^[20]检测了河南固始鸡的快慢羽型个体的分布情况,发现慢羽型(Z^kZ^k 或 Z^kW)鸡只占91.4%,快羽型(Z^kZ^k 或 Z^kW)鸡占8.6%。谢金防等^[22]检测了2 878只崇仁麻鸡雏鸡,发现慢羽型(Z^kZ^k 或 Z^kW)鸡为1 126只,占39.1%;快羽型(Z^kZ^k 或 Z^kW)鸡为1 752只,占60.9%。综合上述结果来看,在多个中国地方鸡种存在慢羽型鸡只,所占比率在各品种间存在差异。林甸鸡后期选育中,如需要,可以通过快、慢羽的分子诊断方法建立雌雄自别品系,为林甸鸡配套系选育工作奠定基础。

4 结 论

本研究发现,产绿壳蛋的林甸鸡只携带 $SLCO1B3-O$ 等位基因, $SLCO1B3$ 基因等位基因的遗传传递情况符合孟德尔遗传规律;林甸鸡中白羽个体基因型为 $TYR-cc$,非白羽个体中有19.3%的鸡只携带 $TYR-c$ 等位基因,基因型为 $TYR-Cc$, TYR 基因等位基因的遗传传递情况符合孟德尔遗传规律;林甸鸡中有7.8%的慢羽型(Z^kZ^k 或 Z^kW)鸡只, K 基因等位基因的遗传传递情况符合孟德尔遗传规律。

致谢:衷心感谢华南农业大学张细权教授提供阳性对照个体的基因组。

参考文献:

- 1 国家畜禽遗传资源委员会. 中国畜禽遗传资源志:家禽志[M]. 北京:中国农业出版社,2011.
- 2 Punnett R C. Genetic study in poultry—IX. The blue egg[J]. Genetics,1933,27:465-470.
- 3 Bartlett J R, Jones C P, Smith E J. Linkage analysis of endogenous viral element 1, blue eggshell, and pea comb loci in chickens[J]. J Hered,1996,87(1):67-70.
- 4 Bitgood J J, Briles R W, Briles W E. Further tests for genetic linkages of three morphological traits, three blood groups, and break points of two chromosome translocations on chromosome one in the chicken[J]. Poult Sci,2000,79(3):293-295.
- 5 Wang Z P, Qu L J, Yao J F, et al. An EAV-HP insertion in 5' flanking region of $SLCO1B3$ causes blue eggshell in the chicken[J]. PLoS Genet,2013,9(1):e1003183.
- 6 Ziehl M A, Hollander W F. Dun, a new plumage-color mu-

- tant at the I-locus in the fowl (*Gallus gallus*) [J]. Ames :Iowa State J Res,1987,62:337-342.
- 7 Smyth J R Jr. Poultry breeding and genetics[M]. Amsterdam: Elsevier,1990.
- 8 Brumbaugh J A, Barger T W. Oetting WSA new allele at the C pigment locus in the fowl[J]. J Hered,1983,74:331-336.
- 9 Chang C M, Coville J L, Coquerelle G et al. Complete association between a retroviral insertion in the tyrosinase gene and the recessive white mutation in chicken [J]. BMC Genomics,2006,7:19.
- 10 Bacon L D, Smith E J, Crittenden L B. Association of the slow feathering(K) and an endogenous viral ($ev21$) gene on the Z chromosome of chickens[J]. Poult Sci,1988,67(2):191-197.
- 11 Serebrovsky A S. Crossing-over involving three sex-linked genes in chicken[J]. Am Nat,1922,56:571-572.
- 12 Hertwig R. Metabolic acidity or alkalinity of foods[J]. Science,1929,69(1791):454.
- 13 杨宁主编. 家禽生产学[M]. 北京:中国农业出版社,2002.
- 14 欧阳建华,孙汉. 羽速基因对万载康乐黄鸡肉用性能的影响[J]. 江西农业大学学报,2001,24(4):508-513.
- 15 韩瑾润. 影响羽毛发育的生长因子及相关 $ev21$ 调控的研究[D]. 北京:中国农业大学,2007.
- 16 张爱平,王继华. 北京油鸡鱼腥基因和羽速基因检测与分析[D]. 石家庄:河北工程大学,2010.
- 17 袁青妍,卢立志. 禽类蛋壳颜色及其基因的遗传研究进展[J]. 遗传,2007,29(3):265-268.
- 18 赵兴波. 分子诊断与动物分子育种[M]. 北京:科学出版社,2011.
- 19 许继国,詹惠娜,许夏宇,等. 分子方法鉴定有色羽鸡中的隐性白羽突变[C]//全国动物遗传育种学术讨论会暨纪念吴仲贤先生诞辰100周年大会论文集,2011.
- 20 宋素芳,康相涛,孙桂荣,等. 固始鸡快慢羽纯系的选育及自别雌雄效果研究[J]. 华中农业大学学报,2003,22(4):374-377.
- 21 李培周,李华,杜炳旺,等. 贵妃鸡羽速基因分子检测及相关早熟性状分析[J]. 中国家禽,2013,35(21):5-8.
- 22 谢金防,谢明贵,刘林秀,等. 崇仁麻鸡羽速基因自别雌雄技术研究[J]. 中国家禽(增刊),2003,7:14-16.