

秦玉梅, 任 嵩, 李佳玉, 等. 鸡 *FSHβ*、*ESRα* 基因多态性及其合并基因型与产蛋性能的关联性分析[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(4): 854-862.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.04.020

鸡 *FSHβ*、*ESRα* 基因多态性及其合并基因型与产蛋性能的关联性分析

秦玉梅, 任 嵩, 李佳玉, 张 璐, 杨娴婧, 廖和荣, 孙 杰
(新疆石河子大学动物科技学院, 新疆 石河子 832003)

摘要: 使用 SSCP 技术检测 *FSHβ*、*ESRα* 的 SNPs 位点, 分析鸡 *FSHβ*、*ESRα* 基因多态性及其合并基因型与产蛋性能的相关性, 为寻找玫瑰冠鸡产蛋性能相关分子标记提供依据。结果表明: 在玫瑰冠鸡和海兰褐蛋鸡群体中分别检测到 *FSHβ* (A-173G) 和 *ESRα* (G-78416T, A-119854T, C-158689G) 4 个多态位点, 其中 A-173G 位点、A-119854T 位点、C-158689G 位点 AB 型对玫瑰冠鸡 300 日龄产蛋数有显著影响 ($P < 0.05$); *ESRα* 基因单倍型 GTC 个体的开产体质量和 300 日龄产蛋数高于单倍型 GAG, 是 2 种鸡的优势基因型; *FSHβ*、*ESRα* 合并基因型中玫瑰冠鸡 H6 型的初生质量显著高于 H1 基因型 ($P < 0.05$), 海兰褐蛋鸡 H1 型的开产蛋质量显著高于 H9、H10 及 H12 合并基因型 ($P < 0.05$), 开产日龄显著早于 H11 基因型 ($P < 0.05$), 300 日龄产蛋数显著高于其他合并基因型 ($P < 0.05$)。因此 *FSHβ* (A-173G)、*ESRα* (A-119854T)、*ESRα* (C-158689G) AB 型与 *FSHβ*、*ESRα* 合并基因 H6 型有望作为与玫瑰冠鸡产蛋性能相关的分子标记。

关键词: 玫瑰冠鸡; *FSHβ* 基因; *ESRα* 基因; 多态性; 产蛋性能

中图分类号: S858.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2017)04-0854-09

Effects of single and combined genotypes of *FSHβ* and *ESRα* genes on laying performance in chicken

QIN Yu-mei, REN Song, LI Jia-yu, ZHANG Lu, YANG Xian-jing, LIAO He-rong, SUN Jie
(College of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832003, China)

Abstract: To analyze the association of *FSHβ* and *ESRα* genes' polymorphisms and their combined genotypes with chicken laying performance, so as to provide the basis for searching molecular markers related to laying performance, the SSCP technique was used to detect the SNPs of *FSHβ* and *ESRα*. Four polymorphic sites of *FSHβ* (A-173G) and *ESRα* (G-78416T, A-119854T, C-158689G) were detected in rose cockscomb chicken and hy-line brown hens, in which the AB genotype of loci A-173G, C-158689G and C-158689G showed significant effects on laying eggs in 300-day-old rose cockscomb chicken ($P < 0.05$). *ESRα*'s haplotype GTC, which is the dominant genotype of two kinds of chicken, were significantly higher than haplotype GAG in puberty body weight and egg number at 300-day-old. The combined genotype H6 of rose

cockscomb chicken was significantly higher than genotype H1 in birth weight. The combined genotype H1 of hy-line brown hens was significantly higher than H9, H10 and H12 ($P < 0.05$) in primary egg weight, earlier in first egg than H11, and more in egg number than other combined genotypes at 300-day-old ($P < 0.05$). Therefore, the AB genotype of *ESRα*, *FSHβ* (A-173G) and *ESRα* (A-

收稿日期: 2017-03-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (310654); 石河子大学育种专项 (gxjs2014-yz03)

作者简介: 秦玉梅 (1991-), 女, 甘肃陇南人, 硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种。 (E-mail) 934482831@qq.com

通讯作者: 孙 杰, (E-mail) sunjie_shzu@126.com

119854T) and the combined genotype H6 of *FSH β* -*ESR α* are expected to be molecular markers related to laying performance in rose cockscomb chicken.

Key words: rose cockscomb chicken; *FSH β* gene; *ESR α* gene; polymorphism; laying performance

家禽的产蛋行为受到下丘脑-垂体-性腺轴三者构成的神经内分泌调节系统的影响,促卵泡素(Follicle stimulating hormone, FSH)和雌激素(Estrogen E2)作为调控轴上的重要激素,对卵巢卵泡的生长发育、优势卵泡的选择起到主效调控作用^[1]。FSH有2个常见的 α 亚基和 β 亚基^[2],可促进雌性动物卵泡内膜细胞分化、颗粒细胞增生和卵泡液的分泌,尤其在刺激母鸡的卵泡发育、成熟直至排卵中发挥着促进作用^[3]。研究结果表明,给切除垂体的母鸡注射垂体分泌的促卵泡激素制剂,可以促进已发生萎缩的卵泡继续生长^[4]。ESR是一种与特异激素应答DNA元件相结合的激活转录因子,有*ESR α* 、*ESR β* 2种亚型^[5]。*ESR α* 和*ESR β* 在机体组织中分布有较大差异,阴道至输卵管的上皮中,*ESR β* 的表达量呈现缓慢增加趋势,而*ESR α* 的表达量则与之相反,这些差异被视为可能是不对称卵巢发育的一个重要原因^[6]。*ESR α* 和*FSH β* 在雌性生物卵泡生长和卵母细胞增殖的过程中都起重要协同作用^[7]。李文静等对猪*ESR α* 和*FSH β* 合并基因型与繁殖性状关系的研究中发现合并基因型对产仔性状的遗传效应更为显著^[8]。

玫瑰冠鸡主要生长在北疆沿天山牧场一带,成

年鸡桑椹状的冠形恰似新疆天山雪莲,鲜艳夺目,质量可达100 g以上。其开产日龄为150日龄左右,66周龄产蛋量为203~228个,是宝贵的家禽种质资源和育种素材^[9]。本研究以玫瑰冠鸡和海兰褐蛋鸡为试验材料,查找*FSH β* 、*ESR α* 基因的SNPs位点,分析基因多态性及合并基因型与产蛋性能的关联性,为鸡产蛋性能分子标记辅助选择提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品与数据收集

连续收集242只健康玫瑰冠鸡和176只海兰褐蛋鸡商品代的初生质量、开产日龄、开产体质量、开产蛋质量、300日龄产蛋数和300日龄平均蛋质量等指标;鸡静脉翅下采血2.0 ml,肝素钠抗凝,-20℃保存备用。

1.2 方法

1.2.1 引物设计与PCR扩增 根据GenBank已经公布的鸡*FSH β* 基因序列(登录号:AF467082.2)和*ESR α* 基因序列(登录号:NC_006090.4),采用Primer5.0软件在线设计引物(表1),引物由上海生工生物工程有限公司合成。

表1 引物序列信息

Table 1 The information of primer sequence

引物	引物序列(5'→3')	退火温度(℃)	扩增长度(bp)	扩增位置
FSH β -1	F: TTATGTAGCCCACTGAGGAAAGCCA	58	257	5'UTR 和 exon 1
	R: TAGCTGAGCCGTTTACACITTTGGA			
ESR α -2	F: CAGGCCAAGCTCTGATAATAG	57	198	exon 2
	R: TTACCTGAATACTTCTTTTG			
ESR α -4	F: ATCCGGAAGACCGCAGAGG	56	323	exon 4
	R: TTTGCCCAGTTGATCATGTG			
ESR α -6	F: AAGGGAATGTGTAGAGGGC	55	135	exon 6
	R: ACTTACCAGAATTGAGCAGG			

PCR 扩增体系(15.0 μ l):2 \times *Es Taq* MasterMix 6.5 μ l,模板DNA 0.5 μ l,上下游引物各0.4 μ l,ddH₂O 7.2 μ l。扩增程序:预变性94℃3 min;变性

94℃30 s,退火30 s,延伸72℃30 s,32个循环,终延伸72℃5 min,4℃保存。PCR产物用1.2%琼脂糖凝胶电泳进行检测。

1.2.2 SSCP 分析和测序 将 3.0 μl PCR 产物和 8.0 μl 变性剂混合, 98 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min, 再迅速冰浴 10 min, 把变性好的 PCR 产物 10.0 μl 加于 12% 的聚丙烯酰胺凝胶 (*Acr* : *Bis* = 29 : 1) 中, 先 220 V 电压预电泳 10 min, 再 120 V 电压过夜电泳, 银染显色, 拍照记录。根据电泳图谱判断基因型, 对于存在多态位点的每种基因型挑取 5 个样品 PCR, 经电泳鉴定, 胶回收试剂盒回收目标片段, 纯化后送至上海生工生物工程技术服务有限公司测序。

1.3 统计分析

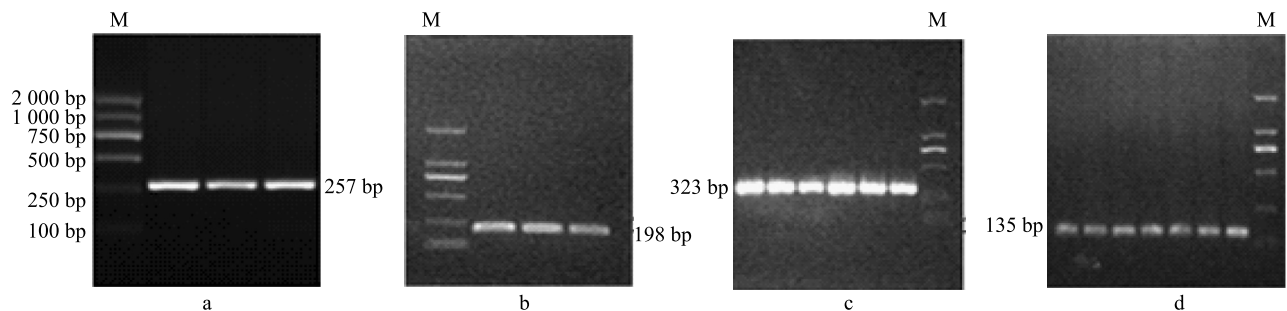
统计 *FSH β* 、*ESR α* 各基因型个数, 采用 SPSS19.0 计算基因型频率和基因频率。基因与性状之间的关联分析运用 SAS V8 软件, 建立 GLM 模型进行最小

二乘分析: 单基因型效应方差分析 $Y_{ij} = \mu + G_j + e_{ij}$; 单倍型效应关联分析: $Y_{ij} = \mu + H_j + e_{ij}$; 合并基因型方差分析 $Y_{ij} = \mu + FSH\beta$ 基因型 + *ESR α* 基因型 + *FSH β* 和 *ESR α* 交互效应 + e_{ij} (Y_{ij} : 性状观察值; μ : 群体均值; G_j : 基因型效应; H_j : 单倍型效应; e_{ij} : 随机残差效应), 组间差异用均值 \pm 标准误差表示。

2 结果与分析

2.1 引物 PCR 产物扩增片段的检测

对设计的 4 对引物分别 PCR 扩增, 结果见图 1。产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 扩增片段与目的片段大小一致, 特异性良好, 可以用于下一步的 SSCP 分析。



M: Marker DL2000 为对照标准; a: *FSH β* -1; b: *ESR α* -2; c: *ESR α* -4; d: *ESR α* -6。

图 1 PCR 产物检测电泳图

Fig.1 Electrophoresis of PCR product of *FSH β* and *ESR α* genes

2.2 PCR-SSCP 检测结果和基因型频率及等位基因频率

FSH β 基因的 PCR 产物经 SSCP 分析后, 在玫瑰冠鸡和海兰褐蛋鸡上均检测到 AA、AB 和 BB 基因型 (图 2), 将各基因型进行 PCR 扩增后测序并与 GenBank 的序列比对发现有 1 处碱基差异 (*A-173G*) (图 3), 该多态性位点发生在 5' 侧翼非编码区, 不参与氨基酸编码。

ESR α 基因的 PCR 产物经 SSCP 分析后, 在外显子 2 上检测到 AA、AB 2 种基因型 (图 4), 测序比对后存在 *G-78416T* (图 5) 突变位点, 导致氨基酸由 Met 转变为 Ile。在外显子 4 上检测到 3 种基因型 (图 6), 存在 *A-119854T* 突变位点 (图 7), 氨基酸由 Glu 有义突变为 267Asp。在外显子 6 上检测到 3 种基因型 (图 8), 存在 *C-158689G* 突变位点 (图 9), 导致氨基酸由 Cys 有义突变为 441Trp。

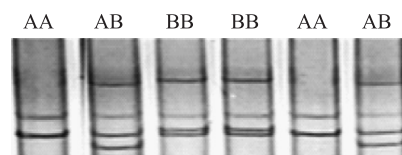


图 2 *FSH β* -1 PCR 产物的 SSCP 分析结果

Fig.2 SSCP electrophoresis of PCR product of *FSH β* -1

统计 *FSH β* 、*ESR α* 基因扩增产物经 SSCP 分析后的各基因型数, 并计算遗传结构指标 (表 2)。 *A-173G* 和 *G-78416T* 突变位点, 基因 A 是 2 种鸡的优势等位基因; *A-119854T* 位点, AB 基因型频率最高, 等位基因 B 是 2 种鸡的优势基因。 *C-158689G* 位点, 玫瑰冠鸡和海兰褐蛋鸡均是 AB 基因型略占优势, A 基因频率微高于 B, 有效等位基因数均接近 2, 可见等位基因在这 2 种鸡群中的分布比较均衡, 4

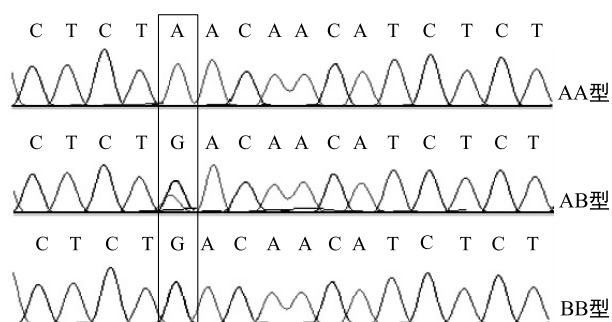
图3 *FSHβ* 基因突变位点(A-173G)序列比较

Fig.3 Sequence alignment of *FSHβ* gene mutation site (A-173G) among three genotypes

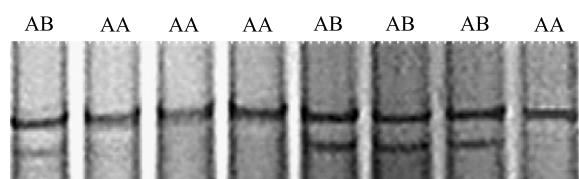
图4 *ESRα* 外显子2 PCR产物的SSCP分析结果

Fig.4 SSCP electrophoresis of PCR product of *ESRα* exon2

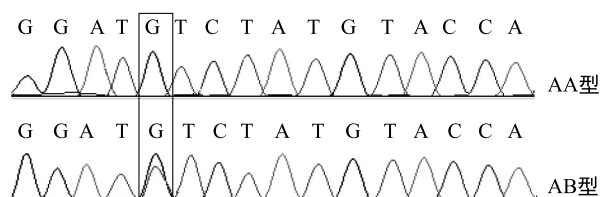
图5 *ESRα* 外显子2突变位点(G-78416T)序列比较

Fig.5 Sequence alignment of *ESRα* exon2 mutation site (G-78416T) among three genotypes

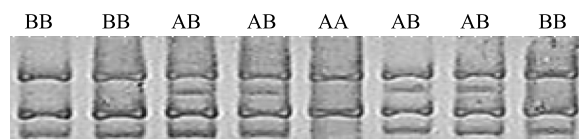
图6 *ESRα* 外显子4 PCR产物的SSCP分析结果

Fig.6 SSCP electrophoresis of PCR product of *ESRα* exon4

个位点的多态信息含量(PIC)都处于0.277~0.375,属于中度多态。 χ^2 检验结果表明,玫瑰冠鸡群在A-173G、G-78416T和A-119854T位点均处于Hardy-Weinberg不平衡($P<0.05$)或极不平衡状态

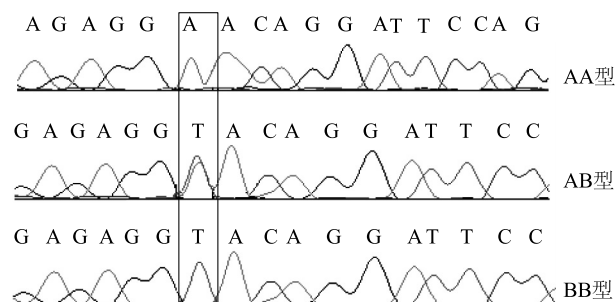
图7 *ESRα* 外显子4突变位点(A-119854T)序列比较

Fig.7 Sequence alignment of *ESRα* exon4 mutation site (A-119854T) among three genotypes

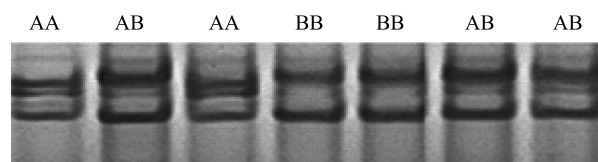
图8 *ESRα* 外显子6 PCR产物的SSCP分析结果

Fig.8 SSCP electrophoresis of PCR product of *ESRα* exon6

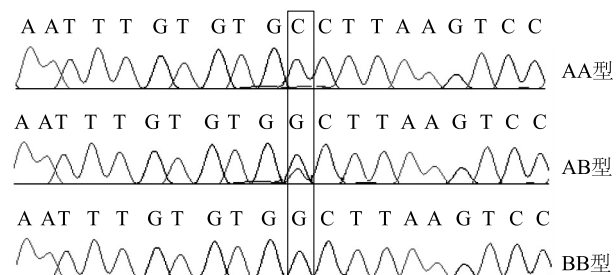
图9 *ESRα* 外显子6突变位点(C-158689G)序列比较

Fig.9 Sequence alignment of *ESRα* exon6 mutation site (C-158689G) among three genotypes

($P<0.01$), C-158689G位点,处于Hardy-Weinberg平衡状态($P>0.05$)。

2.3 *FSHβ*、*ESRα* 基因多态性与鸡产蛋性能的相关性

由表3可知,玫瑰冠鸡A-173G突变位点AB型初生质量显著高于BB型($P<0.05$),300日龄产蛋数显著高于AA型($P<0.05$),是玫瑰冠鸡该位点优势基因型。海兰褐蛋鸡A-173G突变位点AB型开产蛋质量高,与AA型差异不显著($P>0.05$),300日龄产蛋数显著高于AA型($P<0.05$),可将AB型视为海兰褐蛋鸡该位点优势基因型。

表 2 基因型频率、基因频率及群体遗传结构指标

Table 2 The genotype and allele frequencies and population genetic structure indices

位点	品种	基因型频率			基因频率		N_e	PIC	H_o	H_e	χ^2
		AA	AB	BB	A	B					
A-173G	RCC	0.616	0.250	0.134	0.740	0.260	1.623	0.310	0.616	0.384	27.216 **
	HLB	0.244	0.545	0.210	0.517	0.483	1.998	0.375	0.500	0.499	1.495
G-78416T	RCC	0.437	0.562	—	0.719	0.281	1.679	0.323	0.596	0.404	34.298 **
	HLB	0.579	0.421	—	0.790	0.210	1.497	0.277	0.668	0.332	12.471 **
A-119854T	RCC	0.223	0.406	0.370	0.426	0.574	1.958	0.369	0.511	0.489	6.434 *
	HLB	0.230	0.420	0.350	0.443	0.557	1.974	0.372	0.506	0.493	3.860
C-158689G	RCC	0.295	0.451	0.254	0.520	0.480	1.997	0.375	0.500	0.500	2.097
	HLB	0.301	0.443	0.256	0.523	0.477	1.996	0.374	0.501	0.499	2.199

* 表示差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。RCC 表示玫瑰冠鸡; HLB 表示海兰褐蛋鸡。 N_e : 有效等位基因数; PIC : 多态信息含量; H_o : 纯合度; H_e : 杂合度。

表 3 *FSHB* 基因 A-173G 位点多态性与产蛋性能的关联分析Table 3 Association between polymorphism of *FSHB* gene (locus A-173G) and laying performance

性状	玫瑰冠鸡			海兰褐蛋鸡		
	AA	AB	BB	AA	AB	BB
BW	38.54±2.33a	38.60±2.21a	34.94±2.90b	39.31±0.96a	37.39±2.31ab	35.64±2.58b
PBW	1 536.50±309.40a	1 491.60±230.07a	1 561.70±298.44a	1 354.90±149.16a	1 199.50±118.08a	1 320.30±131.95a
PEW	38.35±5.25a	36.94±5.56ab	34.68±6.65b	37.15±0.98b	40.93±2.30ab	42.62±2.62a
AFE	153.63±7.57a	147.76±6.87b	151.00±7.52ab	138.88±2.63a	136.19±7.06a	137.44±6.21a
NE(300 d)	111.95±11.50b	122.38±8.72a	114.87±6.89b	134.88±3.64b	141.82±9.78a	138.07±8.61ab
AEW(300 d)	49.50±2.27a	48.18±1.94a	50.97±2.52a	48.25±2.04a	50.73±4.84a	49.72±5.49a

BW: 初生质量; PBW: 开产体质量; PEW: 开产蛋质量; AFE: 开产日龄; NE(300 d): 300 日龄产蛋数; AEW(300 d): 300 日龄平均蛋质量。同一种鸡同一行数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

由表 4 可知, G-78416T 位点 2 种鸡 AB 型 300 日龄平均蛋质量显著高于 AA 型 ($P < 0.05$)。A-119854T 位点, 玫瑰冠鸡 AB 型开产日龄显著早于 AA 型, 300 日龄产蛋数显著高于 AA 型 ($P < 0.05$); 海兰褐蛋鸡 AB 型开产蛋质量、300 日龄产蛋数均显著高于 BB 型 ($P < 0.05$), 300 日龄平均蛋质量显著高于 AA 型 ($P < 0.05$), 与 BB 型差异不显著 ($P > 0.05$), 可见 AB 型是两种鸡该位点的优势基因型。C-158689G 位点, 玫瑰冠鸡 AB

型 300 日龄产蛋数显著高于 AA 型 ($P < 0.05$), 300 日龄平均蛋质量显著高于 BB 型 ($P < 0.05$); 海兰褐蛋鸡 BB 基因型 300 日龄产蛋数显著高于 AA 型 ($P < 0.05$), 与 AB 型差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.4 *ESRα* 单倍型与鸡产蛋性能的关联性分析

利用 *ESRα* 3 个 SNPs 位点构建单倍型, 共出现 8 种不同单倍型 (表 5), 其中单倍型频率小于 10% 的, 在相关性分析时排除。

表 4 *ESRα* 基因多态性与产蛋性能的关联分析Table 4 Association between polymorphism of *ESRα* gene and laying performance

品种	性状	<i>G-78416T</i>		<i>A-119854T</i>			<i>C-158689G</i>		
		AA	AB	AA	AB	BB	AA	AB	BB
RCC	BW	36.95±1.21a	37.72±1.68a	38.70±2.43a	37.82±2.81a	38.72±1.79a	37.45±0.44a	38.75±0.38a	38.61±0.49a
	PBW	1 465.70±152.99a	1 430.50±173.54a	1 519.40±299.30ab	1 671.70±265.30a	1 493.90±267.90b	1 623.31±47.56a	1 593.32±40.19a	1 688.97±53.17a
	PEW	38.12±0.94a	37.84±1.30a	37.84±5.09a	38.03±6.51a	35.05±4.82a	38.62±0.92a	38.77±0.78a	37.11±1.03a
	AFE	148.55±2.53a	150.02±3.52a	154.50±7.66a	149.26±8.38b	152.60±6.18ab	151.80±1.29a	152.53±1.09a	151.32±1.45a
	NE (300 d)	123.49±3.67a	122.87±5.09a	108.23±10.89b	118.67±9.01a	111.61±11.14b	118.31±1.81b	126.26±1.53a	121.50±2.03ab
	AEW (300 d)	45.16±1.97b	49.89±2.73a	48.51±2.27a	47.28±2.63a	46.29±1.63a	48.06±0.33ab	51.12±0.28a	46.64±0.37b
HLB	BW	39.95±1.41a	38.73±1.68a	40.43±2.41a	38.74±1.86a	38.87±1.95a	38.71±0.51a	39.29±0.42a	39.51±0.56a
	PBW	1 365.70±152.99a	1 330.50±173.54a	1 293.10±106.50b	1 393.60±182.60ab	1 428.90±186.00a	1 376.99±31.48a	1 385.06±25.95a	1 371.81±34.17a
	PEW	38.12±0.94a	40.84±1.31a	38.20±1.75ab	40.98±1.36a	37.06±1.42b	39.78±0.67a	40.07±0.56a	39.09±0.73a
	AFE	140.55±2.53a	139.02±3.52a	141.32±3.97a	138.66±3.08a	142.27±3.21a	141.57±1.36a	139.67±1.12a	141.15±1.47a
	NE (300 d)	138.49±3.67a	142.86±5.09a	133.84±5.94b	142.16±4.60a	131.94±4.80b	138.41±2.19b	142.04±1.81ab	143.38±2.38a
	AEW (300 d)	46.66±1.97b	50.49±2.73a	45.86±3.86b	50.74±2.99a	47.44±3.12ab	52.28±0.78a	50.04±0.64ab	48.12±0.85b

RCC:玫瑰冠鸡;HLB 海兰褐蛋鸡。BW:初生质量;PBW:开产体质量;PEW:开产蛋质量;AFE:开产日龄;NE(300 d):300 日龄产蛋数;AEW(300 d):300 日龄平均蛋质量。同一种鸡同一行数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

表 5 *ESRα* 单倍型及频率Table 5 *ESRα* haplotype and frequency

单倍型	频率 (%)		单倍型	频率 (%)	
	RCC	HLB		RCC	HLB
GAC	19.6	18.1	TTC	4.6	6.9
GAG	11.8	17.7	TAC	7.5	1.6
GTC	15.7	22.4	TAG	11.9	4.8
GTG	22.7	20.5	TTG	6.2	7.9

RCC:玫瑰冠鸡;HLB 海兰褐蛋鸡。

由表 6 可知,单倍型 GTC 的开产蛋质量和 300 日龄产蛋数高于其他 4 个单倍型,差异不显著($P>0.05$),开产日龄显著早于单倍型 GAC ($P<0.05$),故可将 GTC 视为玫瑰冠鸡产蛋性能的优势单倍型;海兰褐蛋鸡各单倍型与初生质量、开产日龄无显著相关性,单倍型 GTC 的开产体质量显著高于单倍型 GAC 和 GAG ($P<0.05$),与 GTG 差异不显著($P>0.05$),300 日龄产蛋数显著高于 GAG ($P<0.05$),略高于单倍型 GAC、GTG ($P>0.05$)。可见单倍型 GTC 在玫瑰冠鸡和海兰褐蛋鸡中均表现出优势特性。

表 6 *ESRα* 基因单倍型与产蛋性能的关联分析Table 6 Association between haplotype of *ESRα* gene and laying performance

品种	性状	GAC	GAG	GTC	GTG	TAG
RCC	BW	36.84±0.22b	39.05±0.24ab	38.15±0.19ab	40.79±0.19a	38.11±0.29ab
	PBW	1 708.50±22.40a	1 588.30±24.50b	1 673.30±20.70ab	1 694.50±20.20ab	1 795.10±30.40a
	PEW	38.99±0.45a	38.02±0.49a	39.08±0.42a	37.95±0.41a	38.11±0.61a
	AFE	154.01±0.61a	152.34±0.67ab	149.24±0.57b	148.51±0.55b	149.42±0.83b
	NE(300 d)	119.88±0.87a	118.38±0.96a	121.96±0.81a	117.98±0.79a	120.56±1.19a
	AEW(300 d)	49.08±0.15a	51.71±0.17a	50.89±0.14a	48.18±0.14a	51.03±0.21a
HLB	BW	39.04±0.23a	39.59±0.25a	38.93±0.21a	39.42±0.22a	—
	PBW	1 335.90±14.20b	1 322.60±15.30b	1 489.50±13.10a	1 389.30±13.30ab	—
	PEW	38.96±0.31a	39.36±0.33a	40.05±0.28a	38.61±0.29a	—
	AFE	130.88±0.61a	128.17±0.65a	131.37±0.56a	131.95±0.57a	—
	NE(300 d)	144.74±0.99a	139.58±1.07b	145.96±0.92a	142.54±0.93ab	—
	AEW(300 d)	50.51±0.33ab	49.59±0.36b	52.77±0.31a	52.51±0.31a	—

RCC:玫瑰冠鸡;HLB 海兰褐蛋鸡。BW:初生质量;PBW:开产体质量;PEW:开产蛋质量;AFE:开产日龄;NE(300 d):300 日龄产蛋数;AEW(300 d):300 日龄平均蛋质量。同一种鸡同一行数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.5 *FSHB*、*ESRα* 合并基因型与鸡产蛋性能的相关性

在单基因效应分析的基础上, *A-173G*、*A-119854T*、*C-158689G* 位点共 26 种合并基因型(表 7), 在玫瑰冠鸡中表现频率最高的 H5 型(14.73%) 在海兰褐蛋鸡中仅为 3.98%, 在海兰褐蛋鸡中频率最高的 H9(10.23%) 在玫瑰冠鸡中仅为 2.68%, 频率分布存在品种差异。将玫瑰冠鸡频率高于 5% 的

7 种基因型进行合并效应分析(表 8), 合并基因型中 H2 和 H6 的初生质量显著高于 H1 型($P<0.05$), H7 合并基因型的开产日龄显著早于 H2、H3 和 H5 型($P<0.05$), H6 型 300 日龄产蛋数极显著高于 H2 和 H4 型($P<0.01$), 显著高于 H5 型($P<0.05$), 综合分析可将 H6 基因型视为玫瑰冠鸡合并基因型中的优势合并基因型。

表 7 *FSHB*、*ESRα* 合并基因型的频率分布

Table 7 The frequency distribution of *FSHB-ESRα* combined genotypes

合并基因型	频率(%)		合并基因型	频率(%)		合并基因型	频率(%)	
	RCC	HLB		RCC	HLB		RCC	HLB
H1(AAABAA)	8.04	6.82	H9(ABABAB)	2.68	10.23	H17(ABBBAA)	2.23	4.55
H2(AAABAB)	7.14	8.52	H10(ABABBB)	1.79	6.82	H18(BBAAAA)	2.23	2.84
H3(AAABBB)	10.20	1.70	H11(ABBBAB)	4.46	7.95	H19(BBAAAB)	2.68	3.41
H4(AABBA A)	5.36	2.84	H12(ABBBBB)	2.68	6.25	H20(ABAAAA)	1.34	3.40
H5(AABBAB)	14.73	3.98	H13(AAAAAA)	3.57	1.70	H21(BBABAB)	3.18	0.57
H6(AABBBB)	6.25	0.57	H14(AAAAAB)	4.02	0.57	H22(BBABBB)	0.89	1.72
H7(ABAAAB)	6.70	3.41	H15(AAAABB)	2.23	2.27	H23(BBBBAA)	0.45	2.27
H8(ABABAA)	3.57	7.39	H16(ABAABB)	0.89	3.98	H24(BBBBAB)	0.89	2.84
H25(BBBBBB)	1.34	1.70	H26(BBAAAB)	—	1.70	H27(BBAABB)	0.45	—

RCC:玫瑰冠鸡;HLB 海兰褐蛋鸡。

表 8 *FSHB*、*ESRα* 合并基因型与玫瑰冠鸡产蛋性能的关联分析

Table 8 Association between polymorphism of *FSHB-ESRα* combined genotype and laying performance in rose cockscomb chicken

性状	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7
	AAABAA	AAABAB	AAABBB	AABBA A	AABBAB	AABBBB	ABAAAB
BW	36.39±0.59b	39.84±0.62a	38.96±0.50ab	38.74±0.72ab	38.81±0.43ab	39.89±0.67a	39.12±0.72ab
PBW	1781.10±59.80a	1794.40±63.50a	1771.10±52.90a	1887.40±73.30a	1781.60±44.20a	1806.70±67.85a	1851.60±73.30a
PEW	35.09±1.23a	37.84±1.31a	35.77±1.09a	38.64±1.51a	36.64±0.91a	37.81±1.39a	35.07±1.51a
AFE	148.44±2.09ab	151.50±2.22a	150.82±1.85a	149.91±2.56ab	150.33±1.54a	148.28±2.37ab	145.67±2.56b
NE(300 d)	114.44±3.14ABab	105.31±3.33Bc	118.13±2.78Aa	104.91±3.85Bc	112.06±2.32ABbc	122.50±3.56Aa	115.25±3.85ABab
AEW(300 d)	50.54±0.33a	50.84±0.35a	49.85±0.29a	50.37±0.41a	51.76±0.24a	50.06±0.38a	48.89±0.41a

RCC:玫瑰冠鸡;HLB 海兰褐蛋鸡。BW:初生质量;PBW:开产体质量;PEW:开产蛋质量;AFE:开产日龄;NE(300 d):300 日龄产蛋数;AEW(300 d):300 日龄平均蛋质量。同一种鸡同一行数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$);不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。

海兰褐蛋鸡 *ESRα*、*FSHB* 合并基因型效应分析如表 9 所示, H2 基因型的开产日龄早于 H8、H11 基因型, 差异显著($P<0.05$)。H1 基因型的开产蛋质量显著高于 H9、H10 及 H12 合并基因型($P<0.05$), 开产日龄与 H11 基因型差异显著($P<0.05$), 300 日龄产蛋数显著高于其他合并基因型($P<0.05$), 因此可把 H1 基因型视为海兰褐蛋鸡的优势合并基因型。

3 讨论

3.1 *FSHB*、*ESRα* 多态性与鸡产蛋性能的关联性分析

试验检测到 *FSHB* 基因 *A-173G* 突变位点中 AB

型、BB 型分别是玫瑰冠鸡和海兰褐蛋鸡开产日龄、300 日龄产蛋数相关的优势基因型。该突变位点发生在 5'侧翼区, 不参与氨基酸编码, Dean 等^[10]发现侧翼区突变的氨基酸在啮齿动物和两栖动物中都是保守的, 虽然这些改变是罕见的, 但它们为分子的重要功能区域提供线索。李江曼^[4]研究不同品种鸡的 *FSHB* 基因多态性显示 5'UTR 区 *A2447G* 突变位点与开产日龄、开产蛋质量、40 周龄产蛋量等有不同程度相关, 但不同基因型在不同种群中的分布差异较大且表现出不同的遗传效应。这与周俊、洪坤月在绿壳鸡和太湖鸡上的研究以及本试验的结果均不一致, 说明

即使分子标记与目标性状间存在显著关联,但在不同遗传背景群体中的表现和遗传结构是复杂多样的。

因此,在分子育种中对分离、筛选出的潜在候选分子标记进行大量遗传试验验证是必不可少的。

表 9 *FSHB*、*ESRα* 合并基因型与海兰褐鸡产蛋性能的关联分析

Table 9 Association between polymorphism of *FSHB-ESRα* combined genotype and laying performance in hy-line brown chicken

性状	H1	H2	H8	H9	H10	H11	H12
	AAABAA	AAABAB	ABABAA	ABABAB	ABABBB	ABBBAB	ABBBBB
BW	39.87±2.04a	38.84±1.17a	37.08±1.13a	38.85±1.02a	39.24±1.18a	39.83±1.09a	39.21±1.23a
PBW	1 450.75±108.93a	1 403.73±62.89a	1 409.64±60.42a	1 428.73±54.56a	1 269.87±62.89a	1 415.18±58.22a	1 454.68±65.68a
PEW	43.62±2.30a	39.78±1.33ab	40.59±1.28ab	38.85±1.15b	37.89±1.33b	39.22±1.23ab	37.99±1.39b
AFE	138.01±5.07b	133.75±2.93c	140.84±2.81ab	135.94±2.53bc	142.083±2.93ab	144.78±2.71a	142.09±3.06ab
NE(300 d)	142.25±8.49a	133.08±4.90b	136.01±4.71b	127.37±4.25c	132.50±4.91b	134.71±4.54b	130.54±5.12b
AEW(300 d)	52.59±2.78a	49.69±1.61a	51.52±1.54a	52.10±1.40a	50.22±1.61a	49.143±1.48a	48.81±1.68a

BW:初生质量;PBW:开产体质量;PEW:开产蛋质量;AFE:开产日龄;NE(300 d):300 日龄产蛋数;AEW(300 d):300 日龄平均蛋质量。同一种鸡同一行数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

ESRα 外显子 2 在玫瑰冠鸡和海兰褐蛋鸡上只检测到 AA、AB 2 种基因型,和群体数量不足有关,或在选育进程中发生了遗传漂变^[11],这些推测都需要扩大样本数量,通过更加深入的研究加以证实。*ESRα* 外显子 4 检测到 A-119854T 突变位点的 AB 型是与 2 种鸡开产日龄、300 日龄产蛋数显著相关的优势基因型。*ESRα* 外显子 6 检测到 C-158689G 突变位点,玫瑰冠鸡 AB 型和海兰褐蛋鸡 BB 基因型 300 日龄产蛋数显著高于 AA 型($P<0.05$),因此 AB 型和 BB 型分别是玫瑰冠鸡和海兰褐蛋鸡该位点优势基因型。以上位点的突变均属有义突变,Dvorak 等^[12]的研究结果表明 *ESR* 基因内的突变导致繁殖障碍,人类这种基因突变会导致偶尔的流产,转基因小鼠具有非活性的 *ESR* 基因会改变繁殖系统中的表型变化。因此推测玫瑰冠鸡和海兰褐蛋鸡不同基因型和表型差异的产生可能与 *ESRα* 基因发生有义突变有关。

3.2 *ESRα* 基因单倍型与鸡产蛋性能的关联性分析

单倍型通常包含多个突变位点的遗传信息,利用多个相邻多态性位点构建单倍型块,已成为目前研究复杂性状相关基因的有效策略^[13]。本研究在检测到的 *ESRα* 基因多态位点的基础上进行单倍型分析,结果表明玫瑰冠鸡单倍型 GTC 的开产日龄显著早于单倍型 GAC($P<0.05$),海兰褐蛋鸡单倍型 GTC 的开产体质量、300 日龄产蛋数及 300 日龄平均蛋质量显著高于单倍型 GAG,可把 GTC 认为是优势单倍型。有研究结果^[14]表明 *ESRβ* 外显子 1、外显子 4 和 3'侧翼区构建的单倍型对青脚麻鸡 40 周

龄种蛋数和开产日龄影响显著($P<0.05$),说明构建单倍型的区域可能存在影响鸡产蛋性能的数量性状基因座。这与 Morris 等^[15]认为单倍型分析产蛋量有显著遗传效应且对产蛋性状进行关联分析比单个 SNP 位点分析更有效的结论一致。本研究虽对 *ESRα* 单倍型关联分析进行了初步研究,但基于数量、品种等的限制仍需对显著性结果进行更大群体规模的重复验证,以便为分子标记辅助选择育种工作提供更有利的理论依据。

3.3 *FSHB*、*ESRα* 合并基因型与鸡产蛋性能的关联性分析

本研究对 *ESRα*、*FSHB* 的合并基因型效应分析得出相同位点的基因型合并在不同品种中表现频率差异,A-173G、A-119854T、C-158689G 位点合并基因型共 26 种,仅 H1 和 H2 基因型在玫瑰冠鸡和海兰褐蛋鸡中基因型频率均超过 5%,H5 和 H9 基因型即使分别是 2 种鸡群合并基因型中频率最高的,但却不是最优组合。就玫瑰冠鸡而言,若单纯叠加各位点的优势基因型即 A-173G 位点优势基因型 AB、A-119854T 位点 AB 和 C-158689G 位点 AB 型,则玫瑰冠鸡 H9(ABABAB)合并基因型应该表现出优于其他合并基因型的特点,同理海兰褐蛋鸡的 H10(ABABBB)合并基因型应该是优势合并,但结果显示 H9 型的频率仅为 2.68%,属于低频次合并基因型。H10 型开产蛋质量和 300 日龄产蛋数均显著低于 H1 型($P<0.05$)。因此实际育种要综合考虑各方面因素,筛选出最适宜的分子标记。

桂林生等^[16]对秦川牛肉用性状的相关基因进行

关联性分析得出,单基因型效应不及合并基因型在提高背膘厚和肌间脂肪含量方面的效应显著,也有研究者发现 *ESRα*、*FSHβ* 合并基因型对猪总产仔数和产活仔数有极显著影响 ($P < 0.01$),但合并效应只稍高于单个基因型效应,且合并间无显著规律^[17]。曾献存^[18]研究了 *PROPI* 基因和 *MC4R* 基因对中国美利奴羊生长性状的影响,认为利用候选基因联合育种,可以使绵羊的羊毛细度和生长性状同时得到不同程度的改良。姜建萍等^[19]对大骨鸡的 *FSHβ* 基因和 *PIT1* 基因遗传多态性进行检测并与产蛋性能联合分析发现,优势合并基因型具有最早的开产日龄,最多产蛋量,这与本试验结果有相似之处。将分散在不同个体、品种或品系中的理想基因或基因型聚合到同一个基因组中,使品种在多个性状上同时得到改良,可以产生更有价值和作用的育种素材来源^[20]。然而结合单基因型分析发现,合并2个或更多的优良性状的基因,并不是单个优势基因的简单组合,并且合并基因型的遗传效应无明显规律性,无论是单个基因型或多个基因的合并基因型,各品种的遗传背景、遗传结构、外在饲养环境等的不同,影响效应也会有所差异,因此利用分子标记选择改良性状时可把合并基因型的影响效应作为参考。

参考文献:

- [1] ROZENBOIM I, TAKO E, GAL-GARBER O, et al. The effect of heat stress on ovarian function of laying hens[J]. Poultry Science, 2007, 86(8): 1760-1765.
- [2] ZHANG X D, ZHU H Y, ZHOU J, et al. Relationship between polymorphisms in exon 10 of *FSHR* gene and litter size in swine[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(3): 8252-8261.
- [3] BUSCH A S, HAGEN C P, ALMSTRUP K, et al. Genetic variations altering FSH action affect circulating hormone levels as well as follicle growth in healthy peripubertal girls[J]. Hum Reprod, 2016, 31(4): 897-904.
- [4] 李江曼. 宁都黄鸡 *FSHβ* 和 *PRL* 基因多态性与产蛋性能的关联性分析[D]. 南昌: 江西农业大学, 2013.
- [5] YIN G, ZHU X, GUO C, et al. Differential expression of estradiol and estrogen receptor alpha in severe preeclamptic pregnancies compared with normal pregnancies[J]. Mol Med Rep, 2013, 7(3): 981-985.
- [6] SONODA T, TAKADA J, IBA K, et al. Interaction between *ESRα* polymorphisms and environmental factors in osteoporosis[J]. Journal of Orthopaedic Research, 2012, 30(10): 1529-1534.
- [7] GONZALEZ-MORAN M G. Changes in the cellular localization of estrogen receptor alpha in the growing and regressing ovaries of Gallus domesticus during development[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 447(1): 197-204.
- [8] 李文静, 印崇, 高峰, 等. 军牧1号白猪、杜洛克猪、西藏小型猪和大白猪 *ESR*、*FSHβ*、*EGF* 基因的多态性分布[J]. 中国兽医学报, 2013, 33(11): 1778-1782.
- [9] 贾薇, 张吉保, 廖和荣. 玫瑰冠鸡种质特性的研究[J]. 中国家禽, 2014, 36(13): 5-9.
- [10] DEAN M, WHITE M B, AMOS J, et al. Multiple mutations in highly conserved residues are found in mildly affected cystic fibrosis patients[J]. Cell, 1990, 61(5): 863-870.
- [11] ÇİFTÇİ H B. Effect of estradiol-17β on follicle-stimulating hormone secretion and egg-laying performance of Japanese quail[J]. Animal, 2012, 6(12): 1955-1960.
- [12] DVORAK J, SVOBODA M, VRTKOVÁ I. Detekce a frekvence dvou polymorfismu v lokusu estrogenového receptoru (*ESR*) u prasat[J]. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 1998, 46(3): 21-25.
- [13] WANG Y, ZHAO L P, DUDOIT S. A fine-scale linkage-disequilibrium measure based on length of haplotype sharing[J]. The American Journal of Human Genetics, 2006, 78(4): 615-628.
- [14] 杨跃奎. 鸡 *ESRβ* 基因多态性与产蛋性状的关联研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2010.
- [15] MORRIS R W, KAPLAN N L. On the advantage of haplotype analysis in the presence of multiple disease susceptibility alleles[J]. Genetic Epidemiology, 2002, 23(3): 221-233.
- [16] 桂林生, 咎林森, 王洪宝, 等. *SIRT1* 和 *SIRT2* 基因多态性及合并基因型与秦川牛肉用性状的关联分析[J]. 畜牧兽医学报, 2015, 46(10): 1741-1749.
- [17] MATOUŠEK V, ČERMÁKOVÁ A, KERNEROVÁ N, et al. Analysis of prolificacy in sows of hyperprolific lines of Large White breed[J]. Czech J Anim Sci, 2005, 50(4): 155-162.
- [18] 曾献存, 陈韩英, 贾斌, 等. *MC4R* 和 *PROPI* 基因多态性及合并基因型与中国美利奴羊生长性状的关联分析[J]. 畜牧兽医学报, 2011, 42(9): 1227-1232.
- [19] 姜建萍, 徐日福, 范贤聪, 等. 大骨鸡 *FSHβ* 与 *PIT1* 基因多态性及其聚合基因型对产蛋性能的影响[C]//中国畜牧兽医学会家禽学分会. 中国畜牧兽医学会家禽学分会第九次代表会议暨第十六次全国家禽学术讨论会论文集. 扬州: 中国畜牧兽医学会家禽学分会, 2013: 5.
- [20] SADEGHI M, NIKNAFS S, MORADI SHAHRBABA H, et al. Two SNP in *STAT5B* gene and their association with breeding value of growth and egg production traits in Mazandaran INDIGENOUS Chicken[J]. Livestock Science, 2012, 147(1/3): 198-202.

(责任编辑: 陈海霞)