

陆艳凤, 张蕾, 孙国波, 等. TYR、MITF、ASIP 基因对不同羽色番鸭黑色素沉积的遗传效应研究 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (9): 1-6.
LU Y F, ZHANG L, SUN G B, et al. The genetic effect of TYR, MITF and ASIP genes on melanin deposition in different feather color muscovy ducks [J].
Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (9): 1-6.

TYR、MITF、ASIP 基因对不同羽色番鸭黑色素沉积的遗传效应研究

陆艳凤, 张蕾, 孙国波, 段修军, 陈佳乐

(江苏农牧科技职业学院, 江苏 泰州 225300)

摘要: 旨在探究不同羽色番鸭黑色素沉积的分子机理。本研究以黑羽及白羽番鸭各 100 只为研究群体, 测定 300 日龄番鸭血浆中酪氨酸酶 (TYR)、小眼畸形相关转录因子 (MITF) 和刺鼠信号蛋白 (ASIP) 的活性及总黑色素含量, 并分析 3 个功能基因 (TYR、MITF、ASIP) mRNA 表达对比番鸭 5 个组织 (皮肤、肝脏、肾脏、胸肌和腿肌) 黑色素沉积的遗传相关性。结果: 黑羽番鸭血浆中的 TYR 及 MITF 活性、总黑色素含量极显著高于白羽番鸭 ($P < 0.01$), ASIP 活性则显著低于白羽番鸭 ($P < 0.05$)。黑羽番鸭皮肤组织 TYR、MITF 的 mRNA 表达量最高, 极显著高于肝脏、肾脏、胸肌和腿肌 ($P < 0.01$), 且显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 高于白羽番鸭。除肝脏组织外, 黑羽番鸭各组织中 ASIP 的 mRNA 表达量均低于白羽番鸭, 且皮肤组织 ASIP 的 mRNA 表达量极显著低于白羽番鸭 ($P < 0.01$)。黑羽番鸭皮肤、肝脏、腿肌组织的黑色素含量极显著高于白羽番鸭 ($P < 0.01$), 肾脏和胸肌黑色素含量显著高于白羽番鸭 ($P < 0.05$)。番鸭皮肤组织 TYR、MITF 的 mRNA 表达量与其黑色素含量呈极显著正相关 ($P < 0.01$), ASIP 基因呈极显著负相关 ($P < 0.01$)。黑羽、白羽番鸭皮肤组织中功能基因 mRNA 表达与黑色素沉积的回归方程分别为 $Y_1 = -1.27 + 0.47X_1 + 0.38X_2 - 0.41X_3$, $Y_2 = -1.04 - 0.40X_1 - 0.34X_2 + 0.48X_3$ 。研究结果揭示 TYR、MITF、ASIP 基因与黑色素沉积关系密切, 可作为调控黑色素沉积的关键基因, 用于开展番鸭羽色性状选育。

关键词: 番鸭; 实时荧光定量 PCR; 黑色素沉积; TYR; MITF; ASIP; 遗传效应

中图分类号: S834 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)09-0001-06

The genetic effect of TYR, MITF and ASIP genes on melanin deposition in different feather color muscovy ducks

LU Yanfeng, ZHANG Lei, SUN Guobo, DUAN Xiujun, CHEN Jiale

(Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, China)

Abstract: This was to understand the molecular mechanism of melanin deposition in muscovy ducks with different feather colors. 100 black feather muscovy ducks and 100 white feather muscovy ducks were used as the research population, to determine the activity of TYR, MITF and ASIP and the content of total melanin in the plasma of 300-day-old muscovy ducks. The genetic correlation between the expression of three functional genes mRNA and the content of melanin were determined in the five tissues (of skin, liver, kidneys, chest and leg muscles) of the muscovy ducks. The results showed that the TYR, MITF activity and the total melanin content in the plasma of the black feather muscovy ducks were significantly higher than of the white feather muscovy ducks ($P < 0.01$), but the ASIP activity was significantly lower ($P < 0.05$). The mRNA expression of TYR and MITF genes in the skin tissues of the ducks was the highest and significantly higher, respectively, than those in the other tissues ($P < 0.01$), and they were significantly higher than those in the white feather muscovy ducks ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Except the liver tissue, the mRNA expression of ASIP in the same tissue of the black feather muscovy ducks was lower than of the white feather muscovy ducks, and the mRNA expression of ASIP in their skin tissue was significantly lower ($P < 0.01$). The content of melanin in the skin, liver and leg muscles of the black feather muscovy ducks were significantly higher than of the white feather muscovy ducks ($P < 0.01$), and the melanin content in their kidney and pectoral muscles were significantly higher ($P < 0.05$). In the skin tissue, the mRNA expression of the TYR and MITF genes were significantly correlated with the melanin content ($P < 0.01$), and that of the ASIP gene was negatively correlated ($P < 0.01$). Based on the above results, the regression analysis between functional genes mRNA expression and melanin deposition in black feather and white feather muscovy ducks were as follows: $Y_1 = -1.27 + 0.47X_1 + 0.38X_2 - 0.41X_3$, $Y_2 = -1.04 - 0.40X_1 - 0.34X_2 + 0.48X_3$.

收稿日期: 2024-08-24; 修回日期: 2025-06-28

基金项目: 泰州市种业研发攻关项目 (TZZYGG202304)

第一作者: 陆艳凤, 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 水禽育种, E-mail: sgb1981@126.com。

0.34X₂+0.48X₃。The present results indicated that TYR, MITF, and ASIP genes were closely related to melanin deposition and could be used as key genes to regulate melanin deposition, and they could be used in breeding feather color traits in muscovy ducks.

Keywords: muscovy duck; RT-qPCR; melanin deposition; TYR; MITF; ASIP; genetic effect

禽类羽毛是由其表皮细胞衍生的角质化产物, 具有帮助飞翔、保暖防水、保护身体等方面的作用; 禽类羽毛颜色较为丰富, 多与求偶、传递信息、生存保护、性能差异等有关^[1]。有研究表明, 除羽毛自身结构和外界光照等因素外, 禽类羽毛颜色与黑色素表达量有关^[2]。针对禽类羽色遗传的复杂性和不稳定性, 国内外学者开展了羽色遗传机制、羽色功能基因表达等方面的深入研究, 酪氨酸酶 (TYR) 是影响黑色素生成的限速酶^[3-4], 直接影响具有复杂结构的黑色素的生成, 且经细胞代谢和信息表达调控, 最终干预皮肤组织的表皮及毛 (羽) 颜色^[5]。多位学者研究发现 TYR 基因与家禽的羽 (肤) 色性状呈显著正相关^[6-10]。刺鼠信号蛋白 (ASIP) 是黑色素形成的重要调控基因, 可抑制 TYR 活性或抑制其表达和翻译, 影响黑色素的合成与沉积^[11-14]。研究表明家禽 ASIP 基因表达抑制了黑色素的表达, 且与羽色性状呈负相关^[15-17]。小眼畸形相关转录因子 (MITF) 在黑色素的合成过程中也发挥重要作用^[18-19], 有研究揭示 MITF 基因影响家禽体内黑色素的沉积, 与家禽羽色性状表达量关系密切^[21-25]。基于此, 本研究在前期研究不同羽色番鸭基因组测序及差异基因筛选的基础上, 结合现有文献研究, 筛选了其中的 TYR、MITF 和 ASIP 这 3 个差异基因, 开展其在黑羽 (白羽) 番鸭多组织中的遗传表达, 并分析其与黑色素沉积的相关性, 旨在揭示番鸭羽色遗传机制, 为后期开展羽色选育提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验动物及样本采集

选择健康 300 日龄的黑羽类型番鸭 (国家水禽基因库)、白羽类型番鸭 (望江温氏畜牧有限公司) 各 100 只, 饲养管理要求参照吉林文林等^[26] 制定的番鸭标准执行。

随机挑选不同羽色类型番鸭各 30 只 (公母各半), 禁食 8~12 h 后利用真空抗凝血管 (EDTA2K/抗凝剂) 从翅下静脉采集血液, 经 3 000 r/min 离心 10 min, 获取血浆进行黑色素指标测定; 采血完毕后, 全部屠宰, 各采集 3~5 g 的胸肌、腿肌、肝脏、肾脏和皮肤组织样品, 液氮冻存 5 h 后转入 -80 °C 冰箱保存, 用于实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 基因检测和黑色素含量测定。

1.2 主要试剂与仪器

ELISA 试剂盒、总 RNA 提取试剂盒、荧光定量

试剂盒、荧光定量引物及其他相关试剂耗材均购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司。核酸电泳仪 (DYY-6C) 购于北京六一生物科技有限公司, 低温组织研磨仪 (JXFSTPRP-CL-24L) 购于上海净信实业发展有限公司, Qubit 核酸蛋白定量仪 (Qubit 4, Thermo Fisher) 购于赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司, Aglient 生物分析仪 (2100) 购于安捷伦科技 (中国) 有限公司, 荧光定量 PCR 仪 (CFX Duet 12016265) 购于伯乐生命医学产品 (上海) 有限公司, 凝胶成像系统 (BIOTOP 850) 购于上海胡珀生物科技有限公司, 分光光度计 (Nanodrop 2000) 购于赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司, 多功能酶标仪 (SpectraMax i3x) 购于美谷分子仪器 (上海) 有限公司。

1.3 血浆功能基因活性和总黑色素含量测定

血浆中 TYR、MITF、ASIP 的活性和总黑色素含量的测定委托生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行检测。

1.4 样本 RNA 提取

采用 TRIzol 试剂提取黑羽、白羽羽色类型番鸭样本组织的 RNA, 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 含量, Qubit 检测 RNA 浓度, Aglient 2100 检测 RNA 完整性。

1.5 cDNA 的合成

对获取的番鸭个体组织 RNA 建立 20 μL 反转录体系: RNA (2 μg) 4 μL、Oligo dT-18 (50 μmol/L) 2 μL、RNase 抑制剂 (40 U/μL) 1 μL、5×Reaction Buffer 4 μL、dNTPs (10 mmol/L) 2 μL、M-MuLV 1 μL、无核酸酶的双蒸水 6 μL, 混匀后进行 PCR 反应, 反应条件: 25 °C 5 min, 42 °C 6 min, 70 °C 15 min。cDNA 在 -20 °C 保存备用。

1.6 RT-qPCR 检测

应用 Primer Premier 5.0 软件设计引物, 引物委托生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成 (表 1)。以反转录得到的番鸭样本组织 cDNA 为模板, 进行 RT-qPCR 检测。反应体系为 20 μL: 2×RT-qPCR Master Mix (SYBR Green) 10 μL, PCR 上下游引物 (10 μmol/L) 各 1 μL, DNA 模板 (<100 ng) 1 μL, 0.1% DEPC 水 7 μL。反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 15 s, 60 °C 20 s, 72 °C 40 s, 共 40 个循环。

1.7 黑色素含量测定

获取的胸肌、腿肌、肝脏、肾脏和皮肤组织的样

品经 4 ℃ 生理盐水漂洗并拭干，称取 10 mg 组织样，加入 1 mL (soluene-350 : dd H₂O 的体积比为 9 : 1) 溶液中，100 ℃ 水浴 45 ~ 60 min，随后测定 OD₅₀₀ 值和 OD₆₅₀ 值，黑色素含量以 OD₆₅₀/OD₅₀₀ 比值统计，具体操作按照辛清武等^[25] 检测方法进行。

表 1 引物信息

基因名称	引物序列 (5'→3')	产物大小/bp
TYR	F: CCAAGTACAAGGCTCTGCCA	258
	R: CTGGAAAGAACCAAGTGCTGG	
MITF	F: GCTCACAGAGTCAGAAGCGA	157
	R: TATTCCAGCGCATATCCGGG	
ASIP	F: GGAGGTCAAGGAGAAAGGTTTTG	209
	R: GATGGGTGGGAGATCTGGGA	
β-actin	F: CTCTGACTGACCGCGTTACT	362
	R: TACCAACCATCACACCCTGAT	

1.8 数据统计与分析

应用 SPSS 23.0 软件进行单因素数据间的 *t* 检验分析，双变量相关性分析和逐步线性回归分析，*P* < 0.05 为差异显著，*P* < 0.01 为差异极显著，试验结果以“平均数±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 番鸭血浆功能基因活性及总黑色素测定分析

由表 2 可知，黑羽番鸭血浆中的 TYR 活性、MITF 活性和总黑色素含量均极显著高于白羽番鸭 (*P* < 0.01)，ASIP 活性则是显著低于白羽番鸭 (*P* < 0.05)。

表 2 不同羽色番鸭血浆功能基因活性及总黑色素对比分析

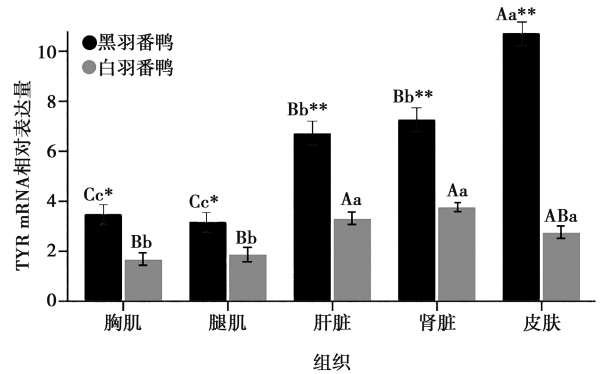
血浆中测定指标	黑羽番鸭	白羽番鸭
TYR 活性/ (U · mL ⁻¹)	33.70±3.84 ^A	20.30±1.86 ^B
MITF 活性/ (U · mL ⁻¹)	44.30±5.23 ^A	27.60±2.37 ^B
ASIP 活性/ (U · mL ⁻¹)	7.80±0.55 ^b	9.40±1.15 ^a
总黑色素/ (ng · mL ⁻¹)	544.70±56.44 ^A	418.50±47.36 ^B

注：同行数据肩标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)。

2.2 TYR 基因 RT-qPCR 的检测情况

在不同羽色类型番鸭的不同组织中 TYR 基因的 RT-qPCR 表达结果差异较大 (图 1)。在黑羽番鸭中，皮肤组织表达量极显著高于肾脏等其他 4 个组织 (*P* < 0.01)，肾脏与肝脏组织均极显著高于胸肌与腿肌组织 (*P* < 0.01)；在白羽番鸭中，肾脏与肝脏组织 TYR 基因 mRNA 表达量最高，极显著高于胸肌与腿肌组织 (*P* < 0.01)，皮肤组织也显著高于胸肌与腿肌

组织 (*P* < 0.05)。同时，在相同组织中，TYR 基因 mRNA 表达量也存在差异性，黑羽番鸭胸肌与腿肌组织显著高于白羽番鸭 (*P* < 0.05)，黑羽番鸭皮肤、肾脏、肝脏组织极显著高于白羽番鸭 (*P* < 0.01)。黑羽番鸭、白羽番鸭 TYR 基因 mRNA 表达量趋势分别为：皮肤 > 肾脏 > 肝脏 > 胸肌 > 腿肌、肾脏 > 肝脏 > 皮肤 > 腿肌 > 胸肌，同组织内 TYR 基因表达量趋势为：黑羽番鸭 > 白羽番鸭。



相同羽色类型不同组织间，小写字母不同表示差异显著 (*P* < 0.05)，大写字母不同表示差异极显著 (*P* < 0.01)；不同羽色类型相同组织间，* 表示差异显著 (*P* < 0.05)，** 表示差异极显著 (*P* < 0.01)。下同。

图 1 TYR 基因在不同羽色番鸭组织中的表达

2.3 MITF 基因 RT-qPCR 的检测情况

MITF 基因在不同羽色类型番鸭不同组织中的 mRNA 表达情况与 TYR 基因表达相似 (图 2)。黑羽番鸭皮肤组织中 MITF 基因 mRNA 表达量最突出，极显著高于其他 4 个组织 (*P* < 0.01)，肾脏组织极显著高于肝脏组织 (*P* < 0.01)，肝脏组织极显著高于胸肌与腿肌组织 (*P* < 0.01)；白羽番鸭肾脏组织显著高于皮肤和肝脏组织 (*P* < 0.05)，极显著高于胸肌与腿肌组织 (*P* < 0.01)，皮肤组织显著高于肝脏组织 (*P* < 0.05)，肝脏组织显著高于胸肌与腿肌组织 (*P* < 0.05)。不同品种的同组织内也存在较大差异性，黑羽番鸭皮肤、肾脏中 MITF 基因 mRNA 表达量极显著高于白羽番鸭 (*P* < 0.01)，胸肌、腿肌、肝脏组织显著高于白羽番鸭 (*P* < 0.05)。

2.4 ASIP 基因 RT-qPCR 的检测情况

由图 3 可知，黑羽番鸭皮肤组织 ASIP 基因 mRNA 表达量显著高于肾脏组织 (*P* < 0.05)，肾脏组织极显著高于肝脏组织 (*P* < 0.01)，肝脏组织显著高于胸腿肌组织 (*P* < 0.05)；白羽番鸭皮肤组织 ASIP 基因 mRNA 表达量极显著高于其他 4 个组织 (*P* < 0.01)，肾脏组织极显著高于肝脏组织 (*P* < 0.01)，肝脏组织显著高于胸肌与腿肌组织 (*P* < 0.05)。同一

组织相比较, 仅有皮肤组织 ASIP 基因 mRNA 表达量表现为黑羽番鸭极显著低于白羽番鸭 ($P < 0.01$), 其余组织在不同羽色间差异不显著。总体上, 白羽番鸭组织中 ASIP 基因 mRNA 表达量高于黑羽番鸭。

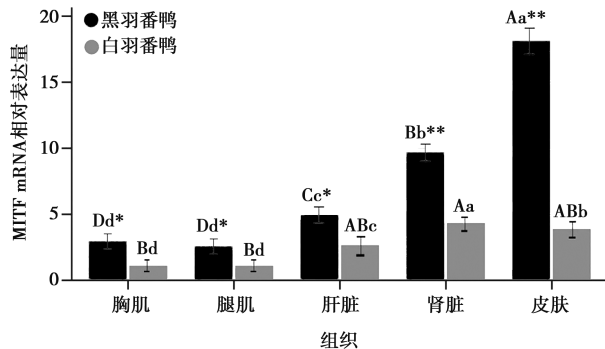


图2 MITF 基因在不同羽色番鸭组织中的表达

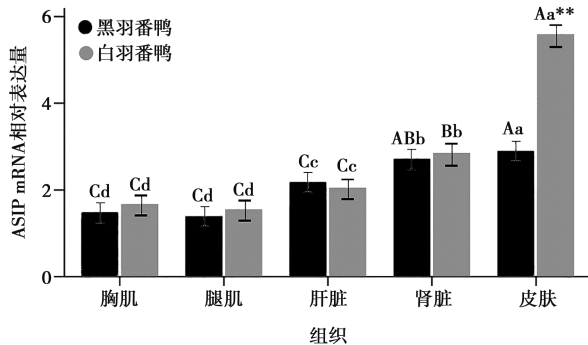


图3 ASIP 基因在不同羽色番鸭组织中的表达

2.5 黑色素在番鸭组织的沉积分析

由图4可知, 在同一羽色番鸭中, 黑色素含量最高的为皮肤组织, 较低的为胸肌、腿肌, 皮肤组织黑色素含量极显著高于其他4个组织 ($P < 0.01$), 肝脏和肾脏组织黑色素含量均极显著高于胸肌与腿肌 ($P < 0.01$)。相同组织比较, 黑羽番鸭皮肤、肝脏、腿肌组织的黑色素含量极显著高于白羽番鸭 ($P < 0.01$), 胸肌组织黑色素含量则显著高于白羽番鸭 ($P < 0.05$)。总体上, 黑色素在番鸭各组织中的沉积量基本趋势为: 皮肤 > 肾脏和肝脏 > 胸肌和腿肌。

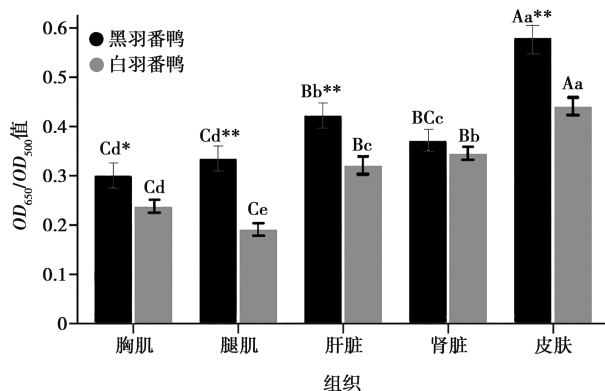


图4 不同羽色番鸭组织中的黑色素含量检测

2.6 黑羽番鸭功能基因表达与黑色素沉积相关性

通过对黑羽番鸭的 TYR、MITF、ASIP 表达与黑色素沉积的相关性分析 (表3), 发现 TYR、MITF 基因 mRNA 水平与黑色素含量均呈正相关, ASIP 基因 mRNA 水平与黑色素含量均呈负相关。肾脏、皮肤组织 TYR 与 MITF 基因 mRNA 水平与黑色素含量均存在极显著正相关 ($P < 0.01$), 皮肤组织 ASIP 基因 mRNA 水平与黑色素含量存在极显著负相关 ($P < 0.01$), 肝脏组织 TYR 与 MITF 基因的表达量与黑色素含量均存在显著正相关 ($P < 0.05$), 胸肌、肾脏组织 ASIP 基因的表达量与黑色素含量均存在显著负相关 ($P < 0.05$)。

表3 黑羽番鸭功能基因 mRNA 表达与黑色素沉积的相关性

基因名称	不同组织黑色素沉积				
	胸肌	腿肌	肝脏	肾脏	皮肤
TYR	0.249	0.266	0.577*	0.548**	0.782**
MITF	0.334	0.376	0.553*	0.712**	0.813**
ASIP	-0.552*	-0.371	-0.230	-0.649*	-0.793**

注: **表示极显著相关 ($P < 0.01$), *表示显著相关 ($P < 0.05$)。下同。

2.7 白羽番鸭功能基因表达与黑色素沉积相关性

由表4可知, 不同组织 ASIP 基因 mRNA 表达量与黑色素沉积均呈负相关, 皮肤组织 TYR、MITF、ASIP 基因 mRNA 表达量与黑色素沉积呈极显著相关 ($P < 0.01$), 肾脏组织 TYR 基因 mRNA 表达量与黑色素沉积呈极显著相关 ($P < 0.01$), MITF 和 ASIP 基因 mRNA 表达量与黑色素沉积呈显著相关 ($P < 0.05$)。3个基因肝脏组织 mRNA 表达量与黑色素沉积均呈显著相关 ($P < 0.05$), 3个功能基因的肌肉组织 mRNA 表达与黑色素沉积相关性不显著。

表4 白羽番鸭功能基因 mRNA 表达与黑色素沉积的相关性

基因名称	不同组织黑色素沉积				
	胸肌	腿肌	肝脏	肾脏	皮肤
TYR	0.393	0.317	0.524*	0.773**	0.793**
MITF	0.433	0.289	0.599*	0.602*	0.827**
ASIP	-0.366	-0.316	-0.678*	-0.634*	-0.853**

2.8 番鸭皮肤组织中功能基因表达与黑色素沉积的回归分析

由表5、表6可知, 黑羽番鸭皮肤组织中的功能基因 mRNA 表达量对黑色素沉积的回归方程为 $Y_1 = -1.27 + 0.47X_1 + 0.38X_2 - 0.41X_3$, R^2 为 0.844 达极显著水平 ($P < 0.01$), 白羽番鸭功能基因 mRNA 表达

量对黑色素沉积的回归方程为 $Y_2 = -1.04 - 0.40X_1 - 0.34X_2 + 0.48X_3$, R^2 为 0.817 达极显著水平 ($P < 0.01$)。以上构建的回归方程拟合效果好、可信度高,对黑羽番鸭羽色选择具有统计学上的重要育种意义。

表 5 黑羽番鸭功能基因 mRNA 表达与黑色素沉积的回归分析

项目	参数估计	标准误	t 值	P 值
常量	-1.27	0.03	-7.08	<0.01
TYR 表达量 (X_1)	0.47	0.08	4.14	<0.01
MITF 表达量 (X_2)	0.38	0.04	3.53	<0.01
ASIP 表达量 (X_3)	-0.41	0.05	4.35	<0.01

表 6 白羽番鸭功能基因 mRNA 表达与黑色素沉积的回归分析

项目	参数估计	标准误	t 值	P 值
常量	-1.04	0.03	-6.59	<0.01
TYR 表达量 (X_1)	-0.40	0.05	3.72	<0.01
MITF 表达量 (X_2)	-0.34	0.03	3.94	<0.01
ASIP 表达量 (X_3)	0.48	0.07	4.88	<0.01

3 讨论

羽色是家禽育种的重要遗传性状,对其遗传机制的研究有助于特色家禽产品的开发,也对禽类起源及演化具有重要意义。羽色遗传受复杂的信号网络调控,羽色形成与色素沉积关系密切,黑色素在羽色表达过程中发挥了重要作用^[27],已知的番鸭羽色相关基因位座有 10 个^[28],陈星等^[29]还列出了 13 个与鸭色素合成的相关基因。本文研究的 TYR、MITF、ASIP 基因包含在其中,但控制鸭羽色的主效(关键)基因仍有待进行深入挖掘和鉴定。

3.1 血浆黑色素指标分析

通过测定黑羽及白羽番鸭的血浆 TYR、MITF、ASIP 活性和总黑色素含量,黑羽番鸭血浆 TYR 活性、MITF 活性极显著高于白羽番鸭,ASIP 活性显著低于白羽番鸭;血浆总黑色素含量也极显著高于白羽番鸭。本试验结果番鸭血浆 TYR 与 MITF 的活性与总黑色素含量成正比,ASIP 活性与总黑色素含量成反比,与徐志强等^[4]研究结果一致,也符合黑羽番鸭裸露皮肤(如胫色)为黑色,而白羽番鸭则为白色或肉色的外貌特征。

3.2 功能基因的多组织表达分析

基因表达一般具有显著的组织特异性以及种质特异性,这与细胞所处的发育阶段、功能部位以及细胞种类有关,从而导致其内部基因开放程度存在差异性,造成了生物体各种性状出现差异^[30]。本研究分

析了 TYR、MITF、ASIP 基因 mRNA 在不同羽色番鸭 5 个组织部位的差异表达情况,结果表明基因表达存在组织差异性,其中黑羽番鸭皮肤组织 TYR、MITF 基因 mRNA 表达量极显著高于其他 4 个组织,白羽番鸭皮肤组织 ASIP 基因 mRNA 表达量极显著高于其他 4 个组织,3 个基因组织间 mRNA 表达量总体趋势为:皮肤>肝脏,肾脏>胸肌,腿肌;基因表达存在种质特异性,黑羽番鸭 TYR、MITF 基因 mRNA 表达量显著或极显著高于白羽番鸭,除皮肤组织外的 4 个组织中黑羽番鸭 ASIP 基因 mRNA 表达量与白羽番鸭差异不显著。

郑嫩珠等^[20]、辛清武等^[25]研究了家禽多组织 MITF 基因 mRNA 表达,其研究结果均显示各组织中 MITF 基因 mRNA 表达量总体趋势为:皮肤>肾脏>肝脏>肌肉,这与本文的 MITF 基因组织间 mRNA 表达规律基本一致。徐志强等^[4]研究发现武定乌骨鸡 TYR 基因 mRNA 表达量总体趋势为:皮肤>肾脏>肝脏>肌肉,与本文的测定结果基本吻合。冉金山等^[17]研究鸡黑色素皮质素 1 受体(MC1R)、TYR 和 ASIP 的多态性及组织表达情况,MC1R、TYR 基因表达量与 ASIP 基因相反,认为 ASIP 基因与 MC1R、TYR 基因存在互为抑制作用,本文中测定的 TYR 和 ASIP 基因组织 mRNA 表达结果也基本印证了这一结论。由此可见,TYR、MITF 及 ASIP 基因作为影响家禽黑色素沉积的关键基因,在羽色形成和表达过程中发挥重要作用,有助于为深入探究家禽羽色性状辅助选择提供技术依据。

3.3 功能基因表达与黑色素沉积的相关性分析

家禽乌质性状的黑色素具有抗氧化和抗病性等作用^[31],借助黑色素沉积开展家禽羽色与肉质方面的选用研究已成为家禽育种的主要领域之一。本文测定了皮肤、肾脏、肝脏、胸肌、腿肌这 5 个组织的黑色素含量,除肾脏外的 4 个组织,黑羽番鸭黑色素含量显著高于白羽番鸭。同时,对上述组织测定数据进行关联分析发现,黑色素含量与 TYR、MITF 基因 mRNA 表达量呈正相关,与 ASIP 基因 mRNA 表达量呈负相关,且仅皮肤组织 TYR、MITF、ASIP 基因 mRNA 表达量与其黑色素含量呈极显著相关,胸肌、腿肌组织则相关性不显著,这与辛清武等^[25]、Li 等^[9]、郑嫩珠等^[20]研究的相关结论一致。黑羽、白羽番鸭皮肤组织中功能基因 mRNA 表达量与黑色素沉积的回归方程分别为 $Y_1 = -1.27 + 0.47X_1 + 0.38X_2 - 0.41X_3$ 和 $Y_2 = -1.04 - 0.40X_1 - 0.34X_2 + 0.48X_3$, R^2 分别为 0.844 和 0.817, TYR、MITF、ASIP 基因对番鸭黑色素沉积作用影响较大,是潜在的可进行番鸭羽色选育的功能基因。因此,本研究结果显示, TYR 和

MITF 基因表达上调对黑羽番鸭体内黑色素沉积具有正向调控作用, ASIP 表达上调不利于番鸭体内黑色素的沉积。

4 结论

本研究测定了不同羽色类型番鸭血浆及组织中的黑色素含量指标, 揭示了 TYR、MITF、ASIP 基因的 mRNA 表达量存在组织差异性和种质差异性; 发现 TYR 和 MITF 基因的 mRNA 表达量与其黑色素含量呈不同程度的正相关, ASIP 基因 mRNA 表达量与其黑色素含量呈负相关, 且回归分析显示 3 个功能基因对黑色素沉积具有较大的决定作用, 表明可将 TYR、MITF、ASIP 基因作为调控黑色素沉积的关键基因, 为深入开展番鸭羽色选育提供研究依据。

参考文献:

- [1] 高源, 黄天然, 黄永强, 等. 超声处理对番鸭源抗氧化肽在不同温度、pH 值和体外消化处理后稳定性的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2025, 48 (3): 661-670.
- [2] 周泽宇, 张夕霏, 孟婕, 等. 鸡羽色研究现状及发展 [J]. 河北科技师范学院学报, 2022, 36 (3): 68-72.
- [3] ITO S. Encapsulation of a reactive core in neuromelanin [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103 (40): 14647-14648.
- [4] 徐志强, 李丰耘, 赵净颖, 等. 武定乌骨鸡 TYR 基因多态性与黑色素沉积的关联研究 [J]. 云南农业大学学报 (自然科学), 2021, 36 (4): 608-615.
- [5] 刘海霞, 朱爱文, 王步忠, 等. 黑色素形成调控机理及乌骨绵羊黑色素沉积候选基因研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48 (12): 4588-4596.
- [6] 陆晓屏, 滕召纯, 李庆华, 等. 他留乌骨鸡 TYR 基因多态性与色素性状相关性分析 [J]. 中国家禽, 2015, 37 (17): 17-22.
- [7] 赵振华, 黎寿丰, 黄华云, 等. 优质肉鸡不同胫色皮肤组织形态学及黑色素生成相关基因的表达分析 [J]. 中国家禽, 2018, 40 (23): 5-9.
- [8] 徐莹. TYR、TYRP1 基因与朝鲜鹌鹑羽色相关性研究 [D]. 洛阳: 河南科技大学, 2014.
- [9] LI S, WANG C, YU W, et al. Identification of genes related to white and black plumage formation by RNA-Seq from white and black feather bulbs in ducks [J]. PLoS One, 2012, 7 (5): e36592.
- [10] 陈黎, 沈军达, 李国勤, 等. 不同羽色斑嘴野鸭毛囊中 TYR、TYRP1 及 CKIT 基因的表达及调控分析 [J]. 浙江农业学报, 2015, 27 (5): 729-733.
- [11] 梁正翠. 鸭的色素相关基因 ASIP 和 AGRP 的研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2010.
- [12] SERRE C, BUSUTTIL V, BOTTO J M. Intrinsic and extrinsic regulation of human skin melanogenesis and pigmentation [J]. Int J Cosmetic Sci, 2018, 40 (4): 328-347.
- [13] 邓雅迪, 张雪梅, 王旭光. 不同毛色 ASIP 基因编辑中国美利奴细毛羊皮肤组织中黑色素分布及 ASIP 蛋白的表达定位 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2024 (1): 17-22.
- [14] 黄晶. 鹅色素相关基因 TYR 和 MITF 的单核苷酸多态性与羽色性状的相关性研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2012.
- [15] 郑嫩珠, 李丽, 辛清武, 等. 酪氨酸酶 (TYR)、小眼畸形相关转录因子 (MITF) 和刺鼠信号蛋白 (ASIP) 基因对白绒乌骨鸡黑色素沉积的遗传效应 [J]. 农业生物技术学报, 2015, 23 (8): 1076-1083.
- [16] 简华锋, 祖盘玉, 李洪林, 等. 不同羽色鸡种 ASIP 基因 SNP 位点筛选及其生物信息学分析 [J]. 南方农业学报, 2020, 51 (8): 1823-1831.
- [17] 冉金山. 鸡羽色相关基因 MC1R、TYR 和 ASIP 的多态性及组织表达研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2017.
- [18] APOPO S, LIU H, JING L, et al. Identification and profiling of microRNAs associated with white and black plumage pigmentation in the white and black feather bulbs of ducks by RNA sequencing [J]. Anim Genet, 2015, 46: 627-635.
- [19] MARTINA J A, DIAB H I, LI H, et al. Novel roles for the MITF/TFE family of transcription factors in organelle biogenesis, nutrient sensing, and energy homeostasis [J]. Cell Mol Life Sci, 2014, 71: 2483-2497.
- [20] 郑嫩珠, 辛清武, 朱志明, 等. 白绒乌鸡 MITF 基因的 cDNA 克隆、表达及其对黑色素沉积的影响 [J]. 中国农业科学, 2015, 48 (18): 3711-3718.
- [21] 刘小辉, 彭永东, 周荣艳, 等. 坝上长尾鸡 MITF 基因核心启动子鉴定与分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2018, 49 (6): 1116-1123.
- [22] MINVIELLE F, BED'HOM B, COVILLE J L, et al. The "silver" Japanese quail and the MITF gene: causalmutation, associated traits and homology with the "blue" chicken plumage [J]. BMC Med Genet, 2010, 11 (5): 1-7.
- [23] WANG Y, LI S M, HUANG J, et al. Mutations of TYR and MITF genes with are associated with plumage color phenotypes in geese [J]. Asian Austral J Anim, 2014, 27 (6): 778-783.
- [24] SULTANA H, SEO D, CHOIN R, et al. Identification of polymorphisms in MITF and DCT genes and the irassociations with plumage color in Asian duck breeds [J]. Asian Austral J Anim, 2018, 31 (2): 180-188.
- [25] 辛清武, 李丽, 缪中纬, 等. 莆田黑鸭 MITF 基因表达特性及其与黑色素沉积的关联分析 [J]. 农业生物技术学报, 2018, 26 (11): 1928-1937.
- [26] 吉文林. 黑羽番鸭繁育技术规程: DB3212/T 137-2016 [S]. 泰州: 泰州市市场监督管理局, 2016.
- [27] GALVAN I, RODRIGUEZMARTINEZ S A. Negative association between melanin-based plumage color heterogeneity and intensity in birds [J]. Physiol Biochem Zool, 2019, 92 (3): 266-273.
- [28] 高鑫凤, 许继国, 叶峭, 等. 影响番鸭羽色性状的候选基因研究现状 [J]. 中国家禽, 2015, 37 (10): 43-47.
- [29] 陈星, 吴艳, 杨宇, 等. 鸭羽色相关信号通路及基因多态性研究进展 [J]. 中国家禽, 2019, 41 (12): 38-42.
- [30] 孙聪, 宋岩. 生物化学与分子生物学 [M]. 中国中医药出版社, 2023: 90-92.
- [31] DUBEY S, ROULIN A. Evolutionary and biomedical consequences of internal melanins [J]. Pigment Cell Melanoma Res, 2014, 27 (3): 327.