



琅琊鸡及其配套系蛋壳质量、钙代谢生化指标和钙结合蛋白 *CaBP-D28k* mRNA 表达的比较

张宁波¹, 韩照清¹, 金太花¹, 庄桂玉², 李炯奎³, 郑全胜³, 李永洙¹✉

¹临沂大学农林科学学院, 山东临沂 276005; ²青岛西海岸新区农业农村局, 山东青岛 266400; ³山东琅琊鸡种业有限公司, 山东临沂 276000

摘要:【目的】探讨影响琅琊鸡及其配套系蛋壳质量和钙代谢的差异因素, 为琅琊鸡品种资源保护及开发提供理论依据。【方法】选取 240 日龄琅琊鸡及其浅麻羽色、深麻羽色配套系各 180 只, 各品系随机分为 6 个重复, 每个重复 30 只, 在相同饲养条件下饲养至 300 日龄时各重复随机收集鸡蛋 30 枚, 各重复随机选取 6 只, 翅下静脉采集血样, 屠宰后收集左腿胫骨及十二指肠、蛋壳腺、肾脏等组织样, 用于检测蛋壳质量、钙、磷相关指标及钙结合蛋白 *CaBP-D28k* mRNA 的表达量。【结果】浅麻羽色配套系的蛋重显著低于深麻羽色配套系 ($P < 0.05$), 而蛋壳重低于其他品系 ($P > 0.05$); 另外, 蛋壳厚度和蛋壳比率显著高于深麻羽色配套系 ($P < 0.05$), 蛋壳强度显著高于其他品系 ($P < 0.05$); 浅麻羽色配套系的蛋黄、蛋壳、胫骨中钙含量显著高于深麻羽色配套系 ($P < 0.05$), 蛋壳、胫骨中磷含量显著高于其他品系 ($P < 0.05$); 蛋壳中灰分含量浅麻羽色配套系最高, 其次为琅琊鸡、深麻羽色配套系, 而胫骨中灰分含量和胫骨重浅麻羽色配套系最高, 其次为琅琊鸡、深麻羽色配套系, 品系间均差异显著 ($P < 0.05$); 浅麻羽色配套系的体重、胫骨长度显著低于深麻羽色配套系 ($P < 0.05$); 浅麻羽色配套系的血钙、降钙素含量显著低于其他品系, 而浅麻羽色配套系的血磷、碱性磷酸酶、甲状旁腺素含量显著高于其他品系, 且品系间均差异显著 ($P < 0.05$); 浅麻羽色配套系的钙结合蛋白含量显著低于深麻羽色配套系 ($P < 0.05$), 而两个配套系的骨钙素显著高于琅琊鸡 ($P < 0.05$); 浅麻羽色配套系的十二指肠部位钙结合蛋白 *CaBP-D28k* mRNA 表达量显著高于其他品系 ($P < 0.05$), 而蛋壳腺部位表达量显著高于深麻羽色配套系 ($P < 0.05$), 肾脏部位钙结合蛋白表达量显著高于琅琊鸡 ($P < 0.05$)。【结论】在 240—300 日龄产蛋期, 浅麻羽色配套系的血磷、碱性磷酸酶、甲状旁腺素、骨钙素等相关活性物质及十二指肠、肾脏、蛋壳腺部位钙结合蛋白 *CaBP-D28k* mRNA 表达水平高于其他品系, 可能促进其小肠上段对钙磷的吸收和骨钙的释放、转运能力, 影响蛋黄、蛋壳中矿物质的沉积和改善蛋壳、胫骨质量。

关键词: 琅琊鸡; 配套系; 蛋品质; 营养成分; 钙结合蛋白

Comparison Analysis on Eggshell Quality, Biochemical Index of Calcium Metabolism and Calcium Binding Protein *CaBP-D28k* mRNA Expression Between Langya Chicken and Its Synthetic Lines

ZHANG NingBo¹, HAN ZhaoQing¹, JIN TaiHua¹, ZHUANG GuiYu², LI JiongKui³, ZHENG QuanSheng³, LI YongZhu¹✉

¹College of Agriculture and Forestry Science, Linyi University, Linyi 276005, Shandong; ²Agricultural and Rural Bureau of Qingdao West Coast New District, Qingdao 266400, Shandong; ³Shandong Langya Chicken Breed Industry Co., Ltd., Linyi 276000, Shandong

Abstract: 【Objective】 The aim of this research was to provide a theoretical basis for the conservation of Langya Chicken breed

收稿日期: 2020-04-13; 接受日期: 2020-09-03

基金项目: 山东省农业重大应用技术创新项目 (20186243)、琅琊鸡配套系构建与产业化推广项目 (20171125)

联系方式: 张宁波, E-mail: ningbo712@126.com. 通信作者李永洙, E-mail: liyongzhu@lyu.edu.cn

resources and the development of its synthetic lines based on the comparative study on eggshell quality and calcium metabolism of Langya Chicken and its two synthetic lines. 【Method】 Each of one hundred and eighty 240-day-old birds of Langya Chicken and its two synthetic lines (Light linen and Dark linen synthetic lines), were randomly divided into 6 repeats, each with 30 replicates. When the chicken were raised to 300 days of age under the same breeding conditions, thirty eggs and six birds were randomly collected from each repeat, blood samples were taken from the veins under the wings, and tissue samples from the left leg tibia and duodenum, egg shell glands, and kidneys were collected after slaughter. Calcium- and phosphorus-related indicators and the expression levels of calcium binding protein *CaBP-D28k* mRNA were detected. 【Result】 The results showed that the egg weight of the light linen synthetic line was significantly lower than that of the dark linen synthetic line ($P<0.05$), and the eggshell weight was lower than other lines ($P>0.05$). In addition, the eggshell thickness and eggshell ratio were significantly higher than those of the linen line ($P<0.05$), the strength of eggshell was significantly higher than that of other lines ($P<0.05$). The calcium content of egg yolk, eggshell, and tibia in light linen synthetic line was significantly higher than that in dark linen synthetic line ($P<0.05$). The content of phosphorus in the tibia was significantly higher than that of other lines ($P<0.05$), and the ash content in eggshells and tibia was the highest in the light linen synthetic line, followed by the Langya Chicken and the dark linen synthetic line ($P<0.05$). The body weight and tibia length of light linen synthetic line was significantly lower than those of dark linen synthetic line ($P<0.05$). The contents of plasma calcium and calcitonin in the light linen synthetic line were significantly lower than those in other lines, while the plasma phosphorus, alkaline phosphatase, and parathyroid hormone contents in the light linen synthetic line were significantly higher than those in other lines, and the differences between the lines were significant ($P<0.05$); the calcium binding protein content of the light linen synthetic line was significantly lower than that of the dark linen synthetic line ($P<0.05$). While the osteocalcin of the synthetic lines was significantly higher than that of the Langya Chicken ($P<0.05$). The expression level of calcium binding protein *CaBP-D28k* mRNA in duodenum of light linen synthetic line was significantly higher than that of other lines ($P<0.05$), and the expression level in eggshell gland was significantly higher than that of dark linen synthetic line ($P<0.05$). The expression level of calcium binding protein in kidney was significantly higher than that of Langya Chicken ($P<0.05$). 【Conclusion】 The above results showed that the plasma phosphorus, alkaline phosphatase, parathyroid hormone, osteocalcin and other related active substances and calcium-binding protein *CaBP-D28k* mRNA expression level in duodenum, kidney, and shell glands of light linen synthetic lines was all higher than other lines during the 240-300 day-old laying period. which could promote the absorption of calcium and phosphorus in the upper small intestine and the release and transport of bone calcium, affect the deposition of minerals in egg yolk and eggshell, and improve the quality of eggshell and tibia.

Key words: Langya Chicken; synthetic line; egg quality; nutrient content; calcium binding protein

0 引言

【研究意义】矿物元素中钙磷是动物骨骼发育密切相关的必需元素, 饲料中适宜的钙磷元素含量对家禽的生长发育、产蛋、蛋壳质量及骨骼正常发育起到重要作用^[1], 过量或缺乏会导致机体钙磷代谢紊乱, 进而引起生长滞留、生产性能下降、蛋壳质量降低以及骨质疏松症等现象^[2]。蛋壳质量直接影响鲜蛋的保存以及孵化期间热湿传递、破壳等环节。蛋壳强度受到品种、日龄、日粮营养水平、光照、疾病等因素的影响^[3-5]。优良的蛋壳质量不仅便于保存和运输, 而且提高种蛋孵化率。【前人研究进展】由于遗传基础不同, 不同品种的蛋壳品质往往有一定差异。在相同饲养管理条件下蛋壳质量主要受到机体的矿物质代谢水平的影响, 而机体的钙调节主要受激素及其他活性因子的协同作用影响^[5-7]。研究报道, 动物机体的合成代谢基因表达与外部环境变化节律同步, 影响着体内

的生物过程和机体功能^[8], 肠道内钙离子的吸收、转运、沉积是一个复杂的生理反应过程。日粮中的钙不仅维持机体组织细胞的正常活动和血钙水平, 而且形成骨组织和蛋壳的主要成分。钙代谢过程中需要 V_D 和钙结合蛋白 (CaBP-D28k) 的调节, 而钙吸收主要部位在十二指肠和肾脏。其中, 钙结合蛋白在十二指肠部位的钙吸收和蛋壳腺中游离钙的沉积以及蛋壳的形成中发挥重要作用^[9]。【本研究切入点】琅琊鸡作为山东省地方品种, 具有体格小、抗病力强、适应性好、饲料报酬率高等优点^[10]。清远麻鸡的蛋黄色泽较深、蛋壳厚度、蛋壳强度等方面优于其他品种^[11]。南丹瑶鸡具有蛋大小适中, 蛋黄颜色深, 蛋清黏稠, 口感好等特点^[12]。而琅琊鸡存在蛋重小、产蛋量低、蛋壳质量差等方面的缺陷, 为改善产蛋性能, 以琅琊鸡为父本, 与蛋重大、蛋壳质量较好的清远麻鸡、南丹瑶鸡为母本进行杂交, 经过横交、测交后 3 个世代的选育, 培育出浅、深麻羽色配套系。【拟解决的关键

问题】本试验通过测定琅琊鸡及其配套系蛋壳质量、生化指标和相关基因表达量变化规律进行比较分析，旨在为琅琊鸡保种、育种工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物与试验设计

试验与 2019 年 3 月 15 日开始分组预试验，3 月 25 日正式开始试验，240 日龄浅麻羽色配套系、深麻羽色配套系和琅琊鸡商品代母鸡 3 种品系各 180 只，随机分为 6 个重复，每个重复 30 只，试验至 300 日龄为止，试验在山东琅琊鸡种禽有限公司保种场进行。

1.2 试验饲料组成及饲养管理

琅琊鸡以及配套系饲料营养水平参考普通黄羽鸡的营养需要^[13]。基础饲料组成及营养水平见表 1。各组鸡群在全封闭式鸡舍立体三层阶梯笼养条件下饲养，自由饮水和每日喂 3 次饲料，每日光照 16 h。

表 1 试验日粮中主要组成及营养水平（风干基础）
Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (air-dry basis)

项目 Items	含量 Content (%)	营养水平 Nutrient levels	含量 Content
玉米 Corn	58.94	粗蛋白 CP	16.50
大豆粕 Soybean meal	1.86	代谢能 Me/(MJ·kg ⁻¹) ²⁾	12.82
麸皮 Rice bran	8.61	钙 Ca	3.90
玉米胚芽粕 Corn germ meal	5.00	有效磷 P ³⁾	0.44
干酒糟 DDGS	10.00	盐 NaCl	0.34
石粉 Limestone	5.07	赖氨酸 Lys	0.79
玉米蛋白粉 Corn gluten meal	5.00	蛋氨酸 Met	0.39
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.12	蛋+胱 Met+Sys	0.66
DL-蛋氨酸 Met	0.03	苏氨酸 Thr	0.59
盐(氯化钠) NaCl	0.32		
70%赖氨酸 Lys	0.50		
70%氯化胆碱 Choline	0.05		
预混料 Premix ¹⁾	3.50		
总计 Total	100.00		

¹⁾预混料为每千克饲料提供：V_A 1000 IU，V_{D3} 3500 IU，V_E 20 IU，V_K 32 mg，硫胺素 1 mg，核黄素 5 mg，泛酸钙 6 mg，烟酸 30 mg，吡哆醇 6 mg，生物素 1.5 mg，叶酸 2.5 mg，V_B 122 mg，胆碱 500 mg，Mn 65 mg，I 0.8 mg，Fe 60 mg，Cu 8 mg，Zn 80 mg，Se 0.3 mg

²⁾代谢能为计算值，其余为实测值

³⁾饲料表观消化率方法测定有效磷含量

¹⁾ The premix provided the following per kg of diets: V_A 1000 IU, V_{D3} 3500 IU, V_E 20 IU, V_K 32 mg, thiamine 1 mg, riboflavin 5 mg, calcium pantothenate 6 mg, nicotinic acid 30 mg, pyridoxine 6 mg, biotin 1.5 mg, folic acid 2.5 mg, V_B 122 mg, Chline 500 mg, Mn 65 mg, I 0.8 mg, Fe 60 mg, Cu 8 mg, Zn 80 mg, Se 0.3 mg

²⁾ ME was a calculated value, while the others were measured values

³⁾ The content of available phosphorus was determined by apparent digestibility method

1.3 试验方法

1.3.1 生产性能测定 测定琅琊鸡及其配套系 5%开产体重、300 日龄时蛋重以及 240—300 日龄期间产蛋率。

1.3.2 样品的采集 300 日龄时琅琊鸡及其浅、深麻羽色配套系，每个重复每天 6 枚，连续收集 5 d，各重复 30 枚鸡蛋中随机取 5 枚蛋。试验结束后禁食空腹，于第二天 7: 00—8: 30 时各重复组中随机选取 5 只鸡翅下静脉采集血样，3 000 r/min 离心 15 min，分离血浆于-20℃冻存，以备测定血液相关指标；采血后屠宰取出左腿胫骨、十二指肠黏膜、蛋壳腺和肾脏等组织样，迅速放入液氮中，并在-80℃超低温保存备用。

1.3.3 鸡蛋品质分析 按照鸡蛋品质的测定及计算方法^[14]，分析蛋重、蛋黄比例、蛋壳比例、蛋壳厚度（蛋壳厚度计 PEACOCK MODEL P-1）、蛋壳强度（蛋壳强度测定仪 KQ-1A）等指标。

1.3.4 蛋壳和胫骨中矿物质含量以及胫骨强度、密度、指数测定 鸡蛋破壳后，小心去掉蛋壳和蛋清部分，蛋黄表面附着的蛋清剩余液用吸水纸清理后可食蛋黄部分用打蛋器混匀后，取蛋黄混合样中 150 g 于 65℃烘干测定初水分并粉制风干样，之后 105℃下烘干 24 h；左侧胫骨完全剔净之后在乙醚脱脂 12 h，用游标卡尺测量胫骨长度，在 105℃下把胫骨和蛋壳烘干 24 h。灰分含量系用灼烧、称重后计算得出（GB 5009.4-2016），钙含量的检测采用 EDTA 滴定法（GB 5009.92-2016），磷含量检测采用钼蓝分光光度法（GB 5009.87-2016）进行测定。取琅琊鸡及配套系的完整左胫骨，采用三点弯曲法，用 TAXT-Plus 质构仪（Stable Micro Systems Corp，英国）测定胫骨强度；骨矿物质的含量采用单光子吸收测定法（骨矿测定仪 SD200）进行测定，胫骨面积取胫骨骺端处。胫骨密度(kg/cm²)=骨矿含量(g)/[测定面积(cm²)×1000]；胫骨指数=胫骨重(g)/体重(g)×100%。

1.3.5 血液生化指标分析 血浆钙（Ca）、磷（P）和碱性磷酸酶（ALP）采用比色法（可见分光光度计 V-5600）测定^[15]；钙结合蛋白 D28k（CaBP- D28k）^[16]、骨钙素（BGP）^[17]、甲状旁腺素（PTH）^[17]含量测定采用放免法（全自动放免计数仪 XH-6020）；降钙素（CT）^[17]含量采用酶联免疫吸附（酶标仪 ELX808）试剂盒测定，试剂盒均购自武汉基因美科技有限公司。

1.3.6 钙结合蛋白 *CaBP-D28k* mRNA 表达量检测 用 Trizol（Invitrogen）法提取十二指肠、蛋壳腺、肾脏样品总 RNA，反转录为 cDNA 后-20℃保存待测。用

Primer 5.0 软件设计 *CaBP-D28k* 和 β -*actin* 特异性引物, 由上海生工生物技术有限公司合成, 引物序列见表 2。

参照 TAVERNIERS 等^[18]方法, 提取阳性克隆质粒, 用紫外分光光度仪测定质粒浓度, 将此定量模板倍比稀释得到 7 个不同浓度的标准模板, 采用优化好的 PCR 条件进行荧光定量 PCR, 以 Ct 值为纵坐标, 以稀释倍数的对数为横坐标, 建立相对定量标准曲线。以 β -*actin* 作为内标, 使用 Real-Time PCR 检测十二指

肠、蛋壳腺、肾脏中 *CaBP-D28k* mRNA 的表达量。用 SYBR Green I 染色, 在荧光定量仪 (Light Cycler, Rotor-Gene) 上进行扩增和数据分析。

1.4 数据处理

试验数据采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析, 并处理数据, 组间差异用 LSD 法分析, 结果以 (平均数 \pm 标准差) 表示。*CaBP-D28k* mRNA 表达量使用 Bio-Rad CFX Manager 软件分析, 其相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 形式表示。

表 2 Real-Time PCR 引物序列
Table 2 Primer sequences for RT-PCR

基因	基因编号	引物序列	产物大小
Gene	GenBank ID	Sequence of primers (sense/antisense) (5'-3')	Length (bp)
钙结合蛋白 <i>CaBP-D28k</i>	NM_205513	5'-TTAAATCTGCGTTGCTTCCATACA-3'	298
		5'-GGCCCATCCTGCACTCCATAAC-3'	
β 肌动蛋白 β - <i>actin</i>	NM_205518	5'-CCCAAGGCCAACCGTGAGAAGAGT-3'	337
		5'-CGAAGTCCAGGGCCACGTAGCAGAG-3'	

2 结果

2.1 琅琊鸡及其配套系产蛋性能和蛋壳质量的分析

表 3 数据显示, 浅麻羽色配套系产蛋率、蛋壳厚度和蛋壳比例显著高于深麻羽色配套系 ($P<0.05$); 浅麻羽色配套系蛋重显著低于深麻羽色配套系 ($P<0.05$), 蛋壳重差异不显著 ($P>0.05$); 另外, 浅麻羽色配套系蛋壳强度显著高于其他品系 ($P<0.05$), 而蛋黄比例高于其他品系, 但差异不显著 ($P>0.05$)。

2.2 琅琊鸡及其配套系鸡蛋和胫骨中钙、磷成分含量分析

浅麻羽色配套系蛋黄中钙含量显著高于深麻羽色配套系 ($P<0.05$), 而配套系间磷和灰分含量差异不显著 ($P>0.05$); 浅麻羽色配套系蛋壳中钙含量显著高于深麻羽色配套系 ($P<0.05$), 磷含量显著高于其他品系 ($P>0.05$), 并且灰分含量最高, 其次为琅琊鸡、深麻羽色配套系, 且品系间均差异显著 ($P<0.05$); 浅麻羽色配套系的胫骨中钙、磷含量显著高于深麻羽

表 3 琅琊鸡及其配套系产蛋性能和蛋壳质量分析
Table 3 Egg shell quality and performance analysis of Langya Chicken and its synthetic lines

项目	琅琊鸡	浅麻羽色配套系	深麻羽色配套系	P 值
Items	Langya Chicken	Light linen synthetic line	Dark linen synthetic line	P value
产蛋率 Egg production (%)	68.23 \pm 5.35ab	73.45 \pm 6.32a	62.78 \pm 3.45b	0.027
蛋重 Egg weight (g)	49.58 \pm 4.25ab	46.09 \pm 2.55a	55.92 \pm 1.79b	0.035
蛋壳重 Eggshell weight (g)	4.53 \pm 0.34	4.44 \pm 0.26	4.87 \pm 0.18	0.747
蛋壳强度 Eggshell strength (kg \cdot cm ⁻²)	32.27 \pm 5.74a	39.65 \pm 8.34b	30.87 \pm 8.90a	0.041
蛋壳厚度 Eggshell thickness (mm)	34.85 \pm 2.61ab	35.36 \pm 3.07a	32.26 \pm 2.32b	0.024
蛋黄比例 Yolk ratio (%)	33.82 \pm 5.74	34.23 \pm 2.45	33.64 \pm 2.19	0.874
蛋壳比例 Eggshell ratio (%)	9.14 \pm 0.86ab	9.63 \pm 0.22a	8.71 \pm 0.43b	0.036

同行数据标不同小写字母表示差异极显著 ($P<0.05$), 相同字母或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$)。下同。n=6, 产蛋率除外
In the same row, values with different small letter mean significant difference ($P<0.05$), while with the same or no letter mean no significant difference ($P>0.05$). The same as below. n=6, except for egg production rate

色配套系、琅琊鸡，且品系间均差异显著 ($P<0.05$)，而浅麻羽色配套系的灰分含量最高，其次为琅琊鸡、深麻羽色配套系，且品系间均差异显著 ($P<0.05$ ，表 4)。

2.3 琅琊鸡及其配套系体重和胫骨质量分析

浅麻羽色配套系的 5%开产体重、300 日龄体重、

胫骨长度显著低于深麻羽色配套系 ($P<0.05$)，而胫骨重最高，其次为琅琊鸡、深麻羽色配套系，且品系间均差异显著 ($P<0.05$)；另外，浅麻羽色配套系的胫骨指数最高，其次为琅琊鸡、深麻羽色配套系，而浅麻羽色配套系胫骨密度最高，其次为深麻羽色配套系、琅琊鸡，但品系间均差异不显著 ($P>0.05$ ，表 5)。

表 4 琅琊鸡及其配套系鸡蛋和胫骨中钙、磷成分含量分析

Table 4 Analysis of calcium and phosphorus content in eggs and tibia of Langya Chicken and its synthetic lines

项目		琅琊鸡	浅麻羽色配套系	深麻羽色配套系	P 值
Items		Langya Chicken	Light linen synthetic line	Dark linen synthetic line	P value
蛋黄	钙 Ca (%)	1.09±0.05ab	1.24±0.07a	1.06±0.02b	0.024
	磷 P (%)	2.40±0.05	2.28±0.04	2.47±0.07	0.821
	灰分 Ash (%)	1.70±0.01	1.88±0.02	1.64±0.04	0.067
蛋壳	钙 Ca (%)	32.15±2.14ab	33.31±2.62a	31.38±1.38b	0.042
	磷 P (%)	0.12±0.03a	0.14±0.02b	0.12±0.04a	0.045
	灰分 Ash (%)	38.17±5.41a	40.38±6.24b	36.40±3.74c	0.037
胫骨	钙 Ca (%)	34.14±1.42a	38.45±4.11b	36.27±2.85c	0.044
	磷 P (%)	13.18±1.74a	15.78±2.14b	14.12±1.06c	0.032
	灰分 Ash (%)	44.56±2.84a	48.26±6.42b	40.42±5.14c	0.067

表 5 琅琊鸡及其配套系胫骨质量分析

Table 5 Tibia quality analysis of Langya Chicken and its synthetic lines

项目		琅琊鸡	浅麻羽色配套系	深麻羽色配套系	P 值
Items		Langya Chicken	Light linen synthetic line	Dark linen synthetic line	P value
开产体重 Birth weight (g)		1354.8±35.6a	1368.5±64.8a	1465.3±49.2b	0.037
300 日龄体重 Weight at 300 days (g)		1625.71±24.45ab	1551.57±62.41a	1727.14±17.80b	0.011
胫骨重 Tibial weight (g)		57.55±2.85a	59.15±3.74b	54.23±5.27c	0.046
胫骨长度 Length (cm)		80.17±6.42ab	79.29±3.47a	83.00±2.46b	0.042
胫骨指数 Tibial index (%)		3.54±0.14	3.81±0.31	3.14±0.10	0.072
胫骨密度 TMD (kg·cm ⁻²)		14.22±2.41a	16.47±3.85b	14.87±2.67a	0.067

2.4 琅琊鸡及其配套系血液指标分析

浅麻羽色配套系的血浆钙、磷、降钙素含量最低，其次为琅琊鸡、深麻羽色配套系，品系间均差异显著 ($P<0.05$)；而浅麻羽色配套系的碱性磷酸酶含量显著高于琅琊鸡、深麻羽色配套系，且品系间均差异显著 ($P<0.05$)；浅麻羽色配套系的甲状旁腺素含量最高，其次为深麻羽色配套系、琅琊鸡，且品系间均差异显著 ($P<0.05$)；浅麻羽色配套系的钙结合蛋白含量显著高于其他品系 ($P<0.05$)，而配套系的骨钙素均显著高于琅琊鸡 ($P<0.05$ ，表 6)。

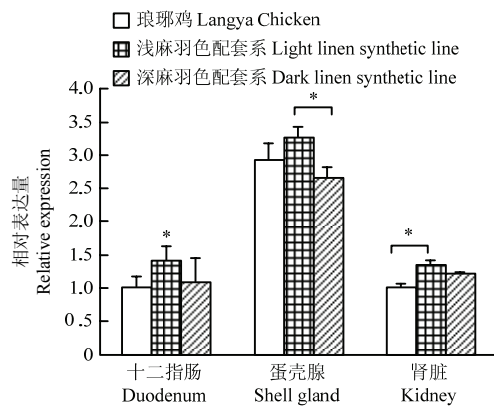
2.5 琅琊鸡及其配套系不同部位钙结合蛋白基因 *CaBP-D28k* mRNA 表达的分析

由图 1 可知，浅麻羽色配套系十二指肠部位钙结合蛋白基因 *CaBP-D28k* mRNA 表达量显著高于其他品系 ($P<0.05$)，浅麻羽色配套系蛋壳腺 *CaBP-D28k* mRNA 表达量显著高于深麻羽色配套系 ($P<0.05$)，浅麻羽色配套系肾脏 *CaBP-D28k* mRNA 表达量显著高于琅琊鸡 ($P<0.05$)。浅麻羽色配套系十二指肠和蛋壳腺以及肾脏 *CaBP-D28k* mRNA 表达量与琅琊鸡比较分别上调 28.37%、10.09%、23.88%，而与深麻羽色配套系比较分别上调 29.36%、23.40%、9.84%。

表 6 琅琊鸡及其配套系血液指标分析

Table 6 The plasma indexes analysis of Langya Chicken and its synthetic lines

项目 Items	琅琊鸡 Langya Chicken	浅麻羽色配套系 Light linen synthetic line	深麻羽色配套系 Dark linen synthetic line	P 值 P value
血浆钙 Plasma Ca (mmol·L ⁻¹)	1.46±0.24a	1.32±0.31b	1.58±0.18c	0.028
血浆磷 Plasma P (mmol·L ⁻¹)	0.78±0.27a	0.72±0.56b	0.86±0.34c	0.043
碱性磷酸酶 ALP (U·L ⁻¹)	24.62±2.52a	29.50±2.74b	19.77±5.47c	0.024
甲状旁腺素 PTH (pg·mL ⁻¹)	75.68±14.12a	96.74±10.27b	87.26±9.51c	0.011
钙结合蛋白 CaBP-D28k (ng·mL ⁻¹)	17.14±1.21a	19.35±2.17b	16.84±1.72a	0.015
骨钙素 BGP (ng·mL ⁻¹)	2.98±0.52a	3.75±0.27b	3.64±0.85b	0.041
降钙素 CT (pg·mL ⁻¹)	16.24±1.40a	14.76±1.85b	17.68±2.40c	0.017



数柱标注*表示差异显著 ($P<0.05$)
Value columns with * indicated that the difference was significant ($P<0.05$)

图 1 琅琊鸡及其配套系不同组织部位钙结合蛋白 *CaBP-D28k* mRNA 的表达

Fig. 1 The expression of *CaBP-D28k* mRNA in different tissues of Langya Chicken and its synthetic lines

3 讨论

3.1 琅琊鸡及其配套系产蛋性能和蛋壳质量的分析

蛋鸡产蛋性能主要取决于养殖环境、疫病、体重、饲料均能影响^[19]。开产体重反映了后备鸡的体质和性成熟情况，影响产蛋周期产蛋性能的发挥。研究表明，坝上长尾鸡的开产体重与开产日龄呈极显著正相关，开产日龄与前期产蛋量呈极显著负相关^[20]。本研究发现，开产体重较大的深麻羽色配套系产蛋数最少，与前者研究结果相符合。鸡蛋品质指标主要包括蛋重和蛋壳质量（强度、厚度）等方面，受到遗传、饲养管理、健康状态和营养水平等因素的影响^[21]。蛋重作为家禽育种工作中重要的目标，也是衡量蛋品质的主要指标。本试验结果表明，在相同饲养条件下的深麻羽

色配套系的蛋重显著大于浅麻羽色配套系，这与选育体系中母系品种直接相关，由于南丹瑶鸡成年鸡平均蛋重 50—54 g^[12]，远大于清远麻鸡的 46.55 g^[11]。蛋壳质量直接影响鲜蛋的保存以及孵化期间热湿传递、破壳等环节。优良的蛋壳质量不仅便于保存和运输，而且提高种蛋孵化率。研究表明，蛋壳厚度、蛋壳重等蛋壳质量与蛋壳强度呈高度的正相关^[22]，并且 300 d 母鸡产蛋量与蛋壳强度呈强正相关^[23]，而蛋壳质量主要取决于钙和磷含量及其比率，蛋壳钙主要来自于肠道吸收和骨钙^[24-25]。本研究结果表明，浅麻羽色配套系蛋壳厚度、蛋壳强度、蛋壳比率显著高于深麻羽色配套系，且浅麻羽色配套系产蛋率显著高于深麻羽色配套系，与已有研究结果^[23]相一致。说明两个配套系对钙、磷等矿物质吸收能力存在显著差异。

3.2 琅琊鸡及其配套系鸡蛋和胫骨中钙、磷成分含量分析

蛋黄中富含蛋白质、脂肪和钙、磷等矿物质，主要来源于日粮中养分，其中钙、磷通过母鸡的一系列吸收、转运过程沉积在卵泡中。家禽的卵巢发育受遗传、环境、营养等因素的影响，其中遗传决定其生产潜能。董传豪报道，地方优质鸡和锦医大 1、2 号配套系间蛋黄含钙量呈现显著差异^[26]。本试验也发现，浅麻羽色与深麻羽色配套系间蛋黄中含钙量差异显著，说明两个配套系父母代对蛋黄中矿物质的沉积有较大影响，并且产蛋性能的高低直接反映成熟卵泡的正常排卵能力。本研究结果显示，浅麻羽色配套系产蛋率显著高于深麻羽色配套系，而体重显著低于深麻羽色配套系。是否与深麻羽色配套系体重过大或卵巢过重而导致过多的卵泡干扰次级卵泡的发育和钙、磷等矿物质的沉积有关，尚需要进一步验证。蛋壳在形成过程中由于子宫本身不存在或含有很少量的钙，钙离子跨膜转运对子宫内壁的钙代谢有重要的影响，故蛋壳

形成所需要的钙磷直接来源于血液和骨骼^[27]。蛋壳中钙有 60%—75% 直接来自饲料, 其余来源于骨钙^[22], 产蛋期饲料中的钙优先沉积在髓骨中, 而髓骨成为蛋壳形成的动态钙源^[28]。本研究发现, 浅麻羽色配套系蛋壳、胫骨中钙、灰分含量显著高于深麻羽色配套系。说明在饲养条件相同情况下, 浅麻羽色配套系在产蛋期骨钙分解能力优于深麻羽色配套系, 高产蛋鸡需释放骨骼钙、磷进入血液以满足产蛋需求, 当蛋鸡产蛋率降至 70% 时, 由于产蛋所需钙、磷消耗下降, 骨动员相关基因表达减少, 骨骼、血液钙含量均略有回升^[29]。本试验过程中深麻羽色配套系一直处在低产蛋水平, 并且血钙浓度高于浅麻羽色配套系, 促进降钙素分泌, 抑制小肠对钙的吸收和骨钙的释放^[30], 影响深麻羽色配套系蛋壳、胫骨中钙水平。另外, 本试验结果也显示产蛋率较低的深麻羽色配套系血磷含量显著高于浅麻羽色配套系, 与产蛋高峰期血磷含量低于低产期的研究结果相一致, 而血磷中含量过高会影响钙的吸收, 影响蛋壳质量^[31]。本研究还发现, 浅麻羽色配套系胫骨长度显著小于深麻羽色配套系, 而胫骨指数、胫骨密度高于深麻羽色配套系。胫骨长度是反映母鸡骨骼发育情况, 其发育程度直接说明母鸡整个产蛋期产蛋个数和产蛋总量。本试验结果显示, 浅麻羽色配套系产蛋率高于深麻羽色配套系, 但其胫骨长度显著低于深麻羽色配套系。其结果是否与深麻羽色配套系体重显著大于浅麻羽色配套系相关, 有待于进一步探讨, 并且目前尚未有琅琊鸡胫骨标准指标, 按照仅有胫骨长度大小评定产蛋性能高低缺乏依据。胫骨中钙、磷含量是反映蛋鸡钙、磷营养状况的指标, 而骨强度、骨密度等指标是对骨骼质量评价的重要指标。随着产蛋性能的提高, 机体为不断满足产蛋需求, 髓质骨进一步降解, 同时开始动用皮质骨, 降低了骨骼质量, 骨的稳定性变差, 并且不同产蛋率蛋鸡胫骨骨吸收水平存在显著差异^[29]。本试验结果显示, 产蛋率高的浅麻羽色配套系胫骨中钙、磷、灰分含量以及胫骨密度显著高于其他品系。说明浅麻羽色配套系在产蛋阶段胫骨动员和重建能力强于深麻羽色配套系, 并且反映胫骨中钙磷含量和胫骨密度与鸡蛋和蛋壳中钙磷水平有一定的相关性。因此, 胫骨质量指标可作为评价鸡蛋中钙、磷以及蛋壳质量的有意义指标^[32]。

3.3 琅琊鸡及其配套系血液指标分析

本研究发现, 在 240—300 日龄产蛋期, 与钙(或磷)代谢相关的结合蛋白和主要激素在两个配套系表现出显著差异。据研究报道, 饲料中大部分钙以难溶

性钙盐形式存在, 必须经消化道内转变成 Ca^{2+} 才能被吸收, 其吸收主要在小肠上段, 家禽在相关激素和活性物质的协调下, 使血钙、磷浓度保持相对恒定, 维持家禽诸多组织和细胞的正常活动^[9,33]。本试验结果显示, 浅麻羽色配套系血钙、磷浓度显著低于琅琊鸡和深麻羽色配套系, 而浅麻羽色配套系胫骨质量、蛋壳质量优于深麻羽色配套系, 同时浅麻羽色配套系具有较高的产蛋率和蛋壳比率, 说明浅麻羽色配套系钙磷动态吸收、转运能力可能优于深麻羽色配套系。已有研究表明, 在肠黏膜细胞中存在多种钙结合蛋白, 能与 Ca^{2+} 结合, 促使钙被吸收^[34]。本研究发现, 浅麻羽色配套系中钙结合蛋白 *CaBP-D28k* 含量显著高于琅琊鸡和深麻羽色配套系, 说明血浆中钙结合蛋白 *CaBP-D28k* 含量的升高促进钙的吸收, 影响其胫骨、蛋壳、蛋黄中钙含量。甲状旁腺素 (PTH)、降钙素 (CT) 影响家禽小肠上段对钙磷的吸收, 维持钙磷在骨组织与体液间平衡, 促进肾脏对钙磷的排泄, 共同调节血钙和血磷浓度的动态平衡, 促进骨的代谢。本试验结果显示, 浅麻羽色配套系血 Ca^{2+} 浓度显著低于琅琊鸡和深麻羽色配套系, 并且 PTH 浓度显著高于其他品系, 可能是蛋壳形成过程中钙沉积增加引起血钙降低, 并进一步诱发 PTH 分泌增加^[35]。降钙素 (CT) 分泌也受到血钙浓度调控, 血钙浓度与降钙素分泌呈正相关。本试验结果也显示, 浅麻羽色配套系血 Ca^{2+} 浓度显著低于琅琊鸡和深麻羽色配套系, 而 CT 浓度显示明显低于其他品系。由于浅麻羽色配套系 CT 浓度降低, 能促进间叶细胞转化为破骨细胞, 激活破骨细胞活性, 促成骨盐溶解及骨基质分解, 同时能抑制破骨细胞转化为成骨细胞, 并降低其活性, 促进小肠对钙的吸收和骨钙的释放^[33], 进而影响浅麻羽色配套系蛋黄、蛋壳质量。骨源碱性磷酸酶 (ALP) 活性可反映成骨细胞和破骨细胞的活性, 在产蛋期钙的需要量升高时, 碱性磷酸酶通过其活性作用促进骨组织释放钙, 满足蛋鸡钙的需要^[33]。本研究结果显示, 浅麻羽色配套系的 ALP 浓度显著高于其他品系, 说明浅麻羽色配套系骨组织释放钙能力优于其他品系。骨钙素 (BGP) 影响骨骼正常矿化和软骨矿化进程, 当骨钙素浓度升高时, 可促进成骨细胞活性和骨形成, 一定程度上活跃骨骼代谢^[30,36]。本研究发现, 浅麻羽色配套系 BGP 浓度显著高于其他品系, 反映了浅麻羽色配套系骨骼代谢较为活跃。与之相对应, 浅麻羽色配套系的蛋壳和胫骨的钙、磷、灰分含量与其他品系差异显著。

3.4 琅琊鸡及其配套系不同部位钙结合蛋白 *CaBP-D28k* mRNA 表达的分析

蛋鸡在产蛋高峰期和产蛋后期对钙需求量比产蛋期之前均会增加,并且主要依赖于十二指肠和肾脏对钙吸收能力的增强以及骨质的降解^[37]。参与 Ca^{2+} 吸收的主要蛋白是钙结合蛋白 D28k,其含量影响骨骼的破骨进程,促进蛋壳腺内 Ca^{2+} 转运和蛋壳形成;肾脏和蛋壳腺内钙结合蛋白 D28k 表达与 Ca^{2+} 的转运密切相关^[33,38]。在 mRNA 水平,鸡产蛋期十二指肠 *CaBP-D28k* 表达量直接或间接与钙磷吸收代谢有关,并影响骨骼的发育;在蛋壳腺内,*CaBP-D28k* mRNA 表达水平在蛋壳钙化的过程中显著增加;而肾脏中 *CaBP-D28k* 可促进肾小管对钙的重吸收,其含量与鸡骨代谢调节密切相关,在蛋壳形成时参与钙的分泌^[39-40];且 *CaBP-D28k* 第三外显子 A5115G 突变极显著提高蛋壳强度^[41]。本试验通过对 240—300 日龄产蛋期琅琊鸡及其配套系不同部位钙结合蛋白 *CaBP-D28k* mRNA 表达检测发现,浅麻羽色配套系十二指肠部位 *CaBP-D28k* mRNA 表达水平显著高于其他品系,并且通过激素等物质的分析结果证实了浅麻羽色配套系蛋黄、蛋壳和胫骨中钙的沉积优于其他品系,浅麻羽色配套系肠道中钙吸收和 Ca^{2+} 的转运水平表现更佳。蛋壳腺内 *CaBP-D28k* 的表达量与 Ca^{2+} 的转运密切相关^[42],本试验结果显示,浅麻羽色配套系钙结合蛋白含量和蛋壳腺内 *CaBP-D28k* mRNA 的表达量与深麻羽色配套系比较分别高 12.97%和上调 23.40%,而浅麻羽色配套系产蛋率、蛋壳比率、蛋壳厚度以及蛋壳中钙含量均高于深麻羽色配套系,说明蛋壳腺内 *CaBP-D28k* mRNA 表达量差异影响蛋壳形成过程中 Ca^{2+} 的转运,从而导致品系间蛋壳厚度、蛋壳中钙水平表现差异。

4 结论

在 240—300 日龄产蛋期,浅麻羽色配套系产蛋率、蛋壳比率、蛋壳厚度、蛋壳强度显著高于深麻羽色配套系,杂交改良在改善蛋壳质量的同时,还影响蛋黄、蛋壳中矿物质的沉积和胫骨质量。浅麻羽色配套系的相关激素和活性物质与其他品系间表现差异,促进小肠上段对钙磷吸收和骨钙的释放、转运能力,骨骼代谢活跃;浅麻羽色配套系十二指肠部位 *CaBP-D28k* mRNA 表达水平显著高于其他品系,深麻羽色配套系和琅琊鸡蛋壳腺、肾脏部位 *CaBP-D28k* mRNA 表达显著下调,反映了相关部位 Ca^{2+} 的吸收、转运以及钙代谢水平差异,影响蛋黄、蛋壳厚度、蛋壳比率以及蛋壳和胫骨中钙水平。

参考文献 References

- [1] BAO Y M, CHOCT M. Trace mineral nutrition for broiler chickens and prospects of application of organically complexed trace minerals: A review. *Animal Production Science*, 2009, 49(4): 269-282.
- [2] WEBSTER A B. Welfare implications of avian osteoporosis. *Poultry Science*, 2004, 83(2): 184-192.
- [3] 赵旦华, 赵秀华, 马渭青, 王思博, 杨季, 李满雨, 刘国君, 许丽. 遮阴对产蛋后期东北白鹅生产性能、蛋品质及血清激素指标的影响. *动物营养学报*, 2020, 32(1): 215-223.
ZHAO D H, ZHAO X H, MA W Q, WANG S B, YANG J, LI M Y, LIU G J, XU L. Effects of shading on performance, egg quality and serum hormone indexes of northeast white geese during later laying period. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(1): 215-223. (in Chinese)
- [4] 刁华杰, 冯京海, 张敏红, 刁新平, 周莹, 李萌, 王雪洁. 循环高温对蛋鸡生产性能、蛋壳品质及钙磷代谢的影响. *动物营养学报*, 2017, 29(8): 2689-2696.
DIAO H J, FENG J H, ZHANG M H, DIAO X P, ZHOU Y, LI M, WANG X J. Effect of cyclic high temperature on performance, egg shell quality and metabolism of calcium and phosphorous of laying hens. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(8): 2689-2696. (in Chinese)
- [5] 康乐, 穆雅东, 张克英, 王建萍, 白世平, 曾秋风, 彭焕伟, 宿卓薇, 玄玥, 丁雪梅. 不同钙水平饲料添加维生素 D_3 对产蛋后期蛋鸡生产性能、蛋品质、胫骨质量和血浆钙磷代谢的影响. *动物营养学报*, 2018, 30(10): 3889-3898.
KANG L, MU Y D, ZHANG K Y, WANG J P, BAI S P, ZENG Q F, PENG H W, SU Z W, XUAN Y, DING X M. Effects of different calcium level diets supplemented with vitamin D_3 on performance, egg quality, tibia quality and plasma calcium and phosphorus metabolism of laying hens in late laying period. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(10): 3889-3898. (in Chinese)
- [6] 杨涛, 甘悦宁, 宋志芳, 赵婷婷, 龚月生. 不同来源和水平的维生素 D_3 对蛋鸡生产性能、蛋品质和胫骨质量的影响. *动物营养学报*, 2014, 26(3): 659-666.
YANG T, GAN Y N, SONG Z F, ZHAO T T, GONG Y S. Effects of different sources and levels of Vitamin D_3 on performance, eggshell quality and tibial quality of laying hens. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(3): 659-666. (in Chinese)
- [7] 张淑云, 王安. 钙和维生素 D 对生长肉鸡免疫及抗氧化功能的影响. *动物营养学报*, 2010, 22(3): 579-585.
ZHANG S Y, WANG A. Effects of calcium and vitamin D on immune and antioxidant functions in growing broilers. *Chinese*

- Journal of Animal Nutrition, 2010, 22(3):579-585. (in Chinese)
- [8] TAHARA Y, SHIBATA S. Circadian rhythms of liver physiology and disease: experimental and clinical evidence. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 2016, 13(4): 217-226.
- [9] 姜明君. 笼养蛋鸡钙代谢对蛋壳质量的影响及其机制的研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2015.
- JIANG M J. Effect of calcium metabolism on eggshell quality in caged laying hens[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2015. (in Chinese)
- [10] 董志梅, 刘晓晓, 龙君江, 李永洙, 秦四海. 不同地方鸡种蛋品质比较和相关性分析. *黑龙江畜牧兽医*, 2016(2):111-113.
- DONG Z M, LIU X X, LONG J J, LI Y Z, QIN S H. Comparison and correlation analysis of egg quality of different local chicken breeds. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2016(2): 111-113. (in Chinese)
- [11] 陈希萍, 景栋林, 李华, 张正芬, 邝智祥. 清远麻鸡蛋品质研究. *中国家禽*, 2014, 36(4):9-12.
- CHEN X P, JING D L, LI H, ZHANG Z F, GUANG Z X. Study on egg quality of Qingyuan partridge chickens. *China Poultry*, 2014, 36(4):9-12. (in Chinese)
- [12] 王娟, 邓继贤, 杨祝良, 孙甜甜, 徐文文, 曾令湖, 黎卓炎, 邹乐勤, 肖聪, 蒋和生, 杨秀荣. 南丹瑶鸡产蛋期蛋品质变化分析. *中国家禽*, 2019, 41(17):54-57.
- WANG J, DENG J X, YANG Z L, SUN T T, XU W W, ZENG L H, LI Z Y, ZOU L Q, XIAO C, JIANG H S, YANG X R. Analysis of egg quality changes of Nandan Yao chicken during laying period. *China Poultry*, 2019, 41(17):54-57. (in Chinese)
- [13] 蒋宗勇. 黄羽肉鸡营养需要研究进展. 北京:中国农业科学技术出版社, 2010.
- JIANG Z Y. Research Progress on Nutritional Requirements of Yellow Feather Broilers. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2010. (in Chinese)
- [14] 冯静, 王燕, 臧蕾, 刘会杰, 鹏达, 马雪英. 不同品种蛋鸡鸡蛋营养成分的比较研究. *畜牧与饲料科学*, 2016, 37(9):4-8.
- FENG J, WANG Y, ZANG L, LIU H J, PENG D, MA X Y. Comparative study on nutritional components of eggs from different laying hens breeds. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2016, 37(9):4-8. (in Chinese)
- [15] LI P, WANG R, JIAO H, WANG X, ZHAO J P, LIN H. Effects of dietary phosphorus level on the expression of calcium and phosphorus transporters in laying hens. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 627.
- [16] SUGIYAMA T, KIKUCHI H, HIYAMA S, NISHIZAWA K, KUSUHARA S. Expression and localisation of calbindin D28k in all intestinal segments of the laying hen. *British Poultry Science*, 2007, 48(2): 233-238.
- [17] 章世元, 俞路, 王雅倩, 孙怀昌, 王志跃, 王捍东, 周联高, 严桂芹, 张莹, 林显华, 汪益峰, 闫韩韩. 鸡甲状旁腺素基因质粒对蛋鸡生产性能、蛋壳质量及血液激素水平的影响(英文). *动物营养学报*, 2008(4): 475-481.
- ZHANG S Y, YU L, WANG Y Q, SUN H C, WANG Z Y, WANG H D, ZHOU L G, YAN G Q, ZHANG Y, LIN X H, WANG Y F, YAN H H. Effects of pCEP4-PTH gene plasmid on production performance, eggshell quality and serum hormone levels in layers. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2008(4):475-481. (in Chinese)
- [18] TAVERNIERS I, WINDELS P, VAITILINGO M M, MILCAMPS A, VAN BOCKSTAELE E, GUY V D E, MARC D L. Event-specific plasmid standards and real-time PCR methods for transgenic Bt11, Bt176, and GA21 maize and transgenic GT73 canola. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(8):3041-3052.
- [19] 王海涛. 蛋鸡产蛋率影响因素及提高措施. *畜禽业*, 2019, 30(4): 31.
- WANG H T. Influencing factors of layer egg laying rate and improving measures. *Livestock Industry*, 2019, 30(4):31. (in Chinese)
- [20] 刘小辉, 李祥龙, 赵彩娟, 李杰, 逯春香. 坝上长尾鸡生长指标与产蛋性能的关系. *江苏农业科学*, 2015, 43(10):256-258.
- LIU X H, LI X L, ZHAO C J, LI J, LU C X. Relationship between growth index and egg production performance of Bashang long-tailed chicken. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2015, 43(10):256-258. (in Chinese)
- [21] 张剑, 初芹, 王海宏, 耿爱莲, 肖银花, 刘华贵. 北京油鸡不同产蛋期鸡蛋品质分析及变化规律研究. *中国家禽*, 2010, 32(16):10-13.
- ZHANG J, CHU Q, WANG H H, GENG A L, XIAO Y H, LIU H G. Effect of different production phase on egg quality traits of Beijing Fatty chicken. *China Poultry*, 2010, 32(16):10-13. (in Chinese)
- [22] POGGENPOELD G. Correlated response in shell and albumen quality with selection for increased egg production. *Poultry Science*, 1986, 65(9):1633-1641.
- [23] 杜晓惠, 熊婷. 母鸡产蛋量、孵化率与蛋品质的关系研究. *中国畜牧杂志*, 2013, 49(5): 9-12.
- DU X H, XIONG T. Study on the relationship between hen egg production, hatchability and egg quality. *Chinese Journal of Animal Science*, 2013, 49(5): 9-12. (in Chinese)
- [24] SEIBELM J. Biochemical markers of bone turnover Part I: Biochemistry and variability. *Clinical Biochemist Reviews*, 2005, 26(4):97-122.
- [25] CRANSBERG P H, PARKINSON G B, WILSON S, THORP B H. Sequential studies of skeletal calcium reserves and structural bone volume in a commercial layer flock. *British Poultry Science*, 2001,

- 42(2):260-265.
- [26] 董传豪, 徐亚欧, 郑玉才, 饶开晴. 3 品种鸡蛋外在品质及营养价值的对比分析. 江苏农业科学, 2016, 44(10):351-354.
- DENG C H, XU Y O, ZHENG Y C, RAO K Q. Comparative analysis of external quality and nutritional value of three eggs. Jiangsu Agricultural Science, 2016, 44(10):351-354. (in Chinese)
- [27] YANG J H, ZHAO Z H, HOU J F, ZHOU Z L, DENG Y F, DAI J J. Expression of TRPV6 and CaBP-D28k in the egg shell gland(uterus) during the oviposition cycle of the laying hen. British Poultry Science, 2013, 54(3):398-406.
- [28] 陈杰, 章世元. 蛋壳的钙化过程及蛋壳腺的钙代谢调控. 畜牧与兽医, 2010, 42(11):93-96.
- CHEN J, ZHANG S Y. Eggshell calcification and calcium metabolism regulation of eggshell glands. Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2010, 42(11):93-96. (in Chinese)
- [29] 刘世发. 笼养蛋鸡钙、磷与骨骼代谢规律及其调节机制[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016.
- LIU S F. Calcium and phosphorus and bone metabolism of cage layers and the regulation mechanism[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2016. (in Chinese)
- [30] 刘旭. 日粮钙和维生素 D₃ 水平对修水黄羽乌鸡产蛋性能、蛋品质和钙代谢的影响[D]. 南昌: 江西农业大学, 2017.
- LIU X. Effects of dietary calcium and vitamin D₃ level on laying performance、egg quality and calcium metabolism in Xiushui yellow black bone chicken during the laying stage[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [31] 闪爱婷, 卜舒扬, 田菁菁, 张强, 杨建成. 海兰褐蛋鸡不同产蛋期血钙磷水平与蛋品质相关性分析. 动物医学进展, 2017, 38(2): 68-70.
- SHAN A T, BU S Y, TIAN J J, ZHANG Q, YANG J C. Correlation analysis of serum calcium and phosphorus levels and egg quality in different laying periods of Hyline Brown layers. Progress in Veterinary Medicine, 2017, 38(2):68-70. (in Chinese)
- [32] 赵春, 朱忠珂, 李勤凡, 王建华, 汪徽, 蔡青和. 制粒温度对饲喂含植酸酶日粮肉仔鸡生长性能及钙、磷利用的影响. 西北农业学报, 2007, 16(4): 47-51.
- ZHAO C, ZHU Z K, LI Q F, WANG J H, WANG J, CAI Q H. Effects of pelleting temperature on growth performance, calcium and phosphorus utilization in broilers fed contained phytase diets. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2007, 16(4): 47-51. (in Chinese)
- [33] MICHAEL B C. Involvement of calcium and phosphorus in bone and shell quality of early maturing commercial layers. World Poultry, 2001, 6:16-19.
- [34] GRZYBOWSKA EWA A. Calcium-binding proteins with disordered structure and their role in secretion, storage, and cellular signaling. Biomolecules, 2018, 8(2):42-50.
- [35] CHRISTAKOS S, DHAWAN P, PORTA A, MADY L J, SETH T. Vitamin D and intestinal calcium absorption. Molecular & Cellular Endocrinology, 2011, 347(1):25-29.
- [36] 王红, 郭定宗. 成骨生长肽对体外培养奶牛成骨细胞碱性磷酸酶和骨钙素的影响初探. 中国奶牛, 2008(4): 11-14.
- WANG H, GUO D Z. Influence of osteogenic growth peptide on the regulation of alkaline phosphatase and osteocalcin in the in vitro osteoblast. China Dairy Cattle, 2008(4):11-14. (in Chinese)
- [37] 卜舒扬. 不同产蛋期蛋鸡小肠及肾脏钙磷代谢相关因子表达变化的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017.
- BU S Y. Study on intestine and kidney calcium-phosphorus metabolism related factors expression levels in different laying period hens[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [38] CORRADINO R A, SMITH C A, KROOK L P, FULLMER C S. Tissue-specific regulation of shell gland calbindin D28k biosynthesis by estradiol in precociously matured, vitamin D-depleted chicks. Endocrinology, 1993, 132(1):193-198.
- [39] 孙杰, 赵宗胜, 姚秀娟, 杨鑫, 任士朋. 钙结合蛋白 D28k 基因在鸡子宫中表达变化的研究. 安徽农业科学, 2010, 38(2): 609-616.
- SUN J, ZHAO Z S, YAO X J, YANG X, REN S P. Study on expression of calbindin-D28k in chicken uterus. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2010, 38(2): 609-616. (in Chinese)
- [40] 俞路. 肌注 CaBP-D28k 真核表达载体对老龄蛋鸡钙代谢和蛋壳质量的调控效应研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2009.
- YU L. Effects of intramuscular injection of CaBP-D28k eukaryotic expression vector on calcium metabolism and eggshell quality in aged laying hens[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2009. (in Chinese)
- [41] 张璐, 张蕾, 秦玉梅, 王恩保, 任嵩, 胡清清, 程胜利, 廖和荣, 孙杰. CaBP-D28k 在蛋鸡生殖器官中的表达及其与蛋品质性状的关联分析. 中国家禽, 2015(24):5-9.
- ZHANG L, ZHANG L, QIN Y M, WANG E, REN S, HU Q Q, CHENG S L, LIAO H R, SUN J. Expression of CaBP-D28k in reproductive organs of laying hens and its correlation analysis with egg quality traits. China Poultry, 2015(24):5-9. (in Chinese)
- [42] CHOI K C, AN B S, YANG H, JEUNG E B. Regulation and molecular mechanisms of calcium transport genes: Do they play a role in calcium transport in the uterine endometrium? Journal of Physiology and Pharmacology, 2011, 62(5):499-504.

(责任编辑 林鉴非)