

# 禽白血病毒在惠阳胡须鸡和汶上芦花鸡的垂直传播特性分析

张会永<sup>1</sup>, 吴井生<sup>2</sup>, 李国辉<sup>1</sup>, 俞燕<sup>1</sup>, 杨剑波<sup>2</sup>, 苏一军<sup>1</sup>, 殷建玫<sup>1</sup>, 韩威<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业科学院家禽研究所, 扬州 225125; 2. 江苏农林职业技术学院, 句容 212400)

**摘要:** 旨在探明禽白血病毒(ALV)在地方鸡种惠阳胡须鸡和汶上芦花鸡的垂直传播特性。以惠阳胡须鸡和汶上芦花鸡为素材, 43周龄时进行血液与精液ALV病毒分离检测, 结合系谱追溯筛选个体组建两个大试验组: 阳性惠阳胡须鸡♂×阴性汶上芦花鸡♀; 阴性汶上芦花鸡♂×阳性惠阳胡须鸡♀。后代群体隔离饲养, 进行1日龄胎粪p27抗原、42日龄泄殖腔拭子p27抗原和病毒分离检测, 并对ALV分离检测阳性样本进行PCR扩增、测序和遗传演化分析确定ALV的亚型。结果表明, 阳性公鸡后代胎粪p27抗原、泄殖腔拭子p27抗原和血浆病毒分离阳性率显著高于阳性母鸡后代( $P < 0.05$ ), 阳性公、母鸡后代病毒分离阳性率分别为8.54%和0%; 阳性公、母鸡S/P值高低与其后代的p27抗原阳性率没有显著相关性( $P > 0.05$ ); 胎粪和棉拭子p27抗原的假阳性率较高, 且与病毒分离相比, 胎粪p27抗原检测的漏检率为15%; 序列分析和遗传演化分析结果表明病毒分离检测阳性个体均为ALV-J。公鸡在地方鸡种惠阳胡须鸡和汶上芦花鸡ALV垂直传播中发挥重要作用, 在禽白血病毒净化过程中要加强对于公鸡感染的监测。

**关键词:** 禽白血病毒; 垂直传播; 地方鸡种

中图分类号: S852.659.3

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2018)07-1475-07

## Characteristic Analysis on Vertical Transmission of Avian Leukosis Virus in Huiyang Chicken and Wenshang Barred Chicken

ZHANG Hui-yong<sup>1</sup>, WU Jing-sheng<sup>2</sup>, LI Guo-hui<sup>1</sup>, YU Yan<sup>1</sup>,  
YANG Jian-bo<sup>2</sup>, SU Yi-jun<sup>1</sup>, YIN Jian-mei<sup>1</sup>, HAN Wei<sup>1\*</sup>

(1. Poultry Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Yangzhou 225125, China;  
2. Jiangsu Vocational College of Agriculture and Forestry, Jurong 212400, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to find the vertical transmission rule of avian leukosis virus (ALV) in indigenous chickens. Huiyang chicken and Wenshang Barred chicken were selected as materials, two experimental groups were set up based on virus isolation detection results of plasma and semen at the age of 43 weeks and pedigree analysis: group I, male and female parent were ALV-positive Huiyang chicken and ALV-negative Wenshang Barred chicken which was divided into three groups and eight chicken in each group; group II, male and female parent were ALV-negative Wenshang Barred chicken and ALV-positive Huiyang chicken. The hybrid offsprings were selected and raised separately, the meconium, cloacal swabs and plasma were collected at 1, 42, 42 days of age for p27 antigen detection and virus isolation detection. The sub-

收稿日期: 2017-10-17

基金项目: 江苏农林职业技术学院科技项目(2017kj03); 江苏省六大人才高峰项目(NY-024); 省级农业科技创新与推广-现代种业发展项目; 现代农业-农业优良品种培育(YZ201651)

作者简介: 张会永(1983-), 男, 河北承德人, 研究实习生, 主要从事家禽遗传资源保护、评价与利用研究, E-mail: zhyong1983@163.com; 吴井生, (1979-), 男, 江苏泰兴人, 副教授, 博士, 主要从事遗传育种研究, E-mail: 17190607@qq.com。二人对本文同等贡献, 并列第一作者

\* 通信作者: 韩威, 副研究员, E-mail: hanwei830@163.com

type of ALV-positive chicken through virus isolation were verified by PCR, sequencing and phylogenetic analysis. The results showed as follows: Positive rates of p27 antigen from meconium, cloacal swabs and virus isolation in offsprings of ALV-negative roosters were significantly higher than those in offsprings of ALV-positive hens ( $P < 0.05$ ). The virus isolation rate in offsprings of ALV-negative roosters and ALV-positive hens were 8.54% and 0%, respectively. There was no significant correlation between amount of ALV carried or shed by ALV-positive roosters and hens and positive rate of p27 antigen in their offsprings ( $P > 0.05$ ). The false positive rate of p27 antigen from meconium and cloacal swabs was high, and misdetection rate of p27 antigen from meconium was 15% compared to virus isolation. Sequencing and phylogenetic analysis showed that ALV-positive chicken through virus isolation were all ALV-J. This study suggest that roosters would play an important role in vertical transmission of ALV, and it would be necessary to strengthen the surveillance of roosters which were infected with ALV in eradication process of avian leuiosis.

**Key words:** avian leukosis; vertical transmission; indigenouse chicken

禽白血病(avian leukosis, AL)是由反转录病毒科禽白血病/肉瘤病毒群病毒(avian leukosis/sarcoma virus, ALV)引起的禽类(主要是鸡)各种良性和恶性肿瘤的一类疾病。禽白血病病毒依据病毒囊膜糖蛋白的抗原差异、病毒干扰试验、宿主范围和基因组分子生物学特性将其划分为 10 个亚群(A~J 亚群)<sup>[1-2]</sup>和新发现的 K 亚群<sup>[3]</sup>,其中 A、B、C、D、J 亚群属于外源性病毒,对鸡生产影响较为严重的是 A、B 和 J 亚群<sup>[4-6]</sup>。

ALV 可水平和垂直传播<sup>[7-8]</sup>。水平传播主要通过出雏和育雏期羽毛、粪便等接触传播,整个饲养过程中疫苗免疫也是主要传播途径之一。已有的研究表明,ALV 可通过母鸡和公鸡进行垂直传播,但是,公鸡、母鸡在 ALV 垂直传播给下一代所起到的作用至今没有相关报道。Tsukamoto 等<sup>[9]</sup>研究发现 ALV 可通过母鸡输卵管传播给胚胎,Payne 和 Nair<sup>[10]</sup>报道也表明 ALV-A、ALV-B 和 ALV-J 均可通过母鸡垂直传播给后代。Segura 等<sup>[11]</sup>、Smith 和 Fadly<sup>[12]</sup>研究认为禽白血病病毒不能在公鸡的生殖器官中增殖,公鸡仅作为病毒载体,在交配过程中传播给后代。张培培<sup>[13]</sup>在仿土蛋鸡群 J 亚型禽白血病病毒的感染状态评估及其来源探究中发现,后代分离到的 ALV-J 毒株与其父本 ALV-J 分离株的 *gp85* 基因序列相似性达 98.5%~99.7%,表明其来源于父本。俞燕等<sup>[14-16]</sup>在地方鸡种公鸡精液检测中发现有 ALV, Li 等<sup>[17]</sup>研究发现公鸡可通过精液将 ALV 垂直传播给后代。

针对鸡遗传资源保种场、基因库而言,由于单个保种群规模较小(一般 30~40 个家系,抢救性

保护群体数量更少),若淘汰全部带毒个体或家系(尤其是数量较少的公鸡),会导致群体规模骤减,造成遗传多样性丢失和近交系数过快增加。基于此,我们以惠阳胡须鸡和汶上芦花鸡为素材,对阳性公、母鸡垂直传播特性进一步验证探讨,旨在为优化种禽场、保种场禽白血病净化方案提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

惠阳胡须鸡和汶上芦花鸡均来源于国家级地方鸡种基因库(江苏),43 周龄时进行禽白血病血液和精液病毒分离检测,筛选个体组建以下试验组:(1)阳性惠阳胡须鸡♂×阴性汶上芦花鸡♀(♂3 只,血液病毒分离 S/P 值分别为 0.877、1.856、4.328;♀分 3 小组,每组 8 只);(2)血液和精液病毒分离检测均为阴性的汶上芦花鸡♂×阳性惠阳胡须鸡(♂为 3 只,♀为 3 小组,S/P 值分别在 0.2~1、1~2、>2,每组 8 只);(3)对照组,阴性芦花公鸡♂×阴性汶上芦花鸡♀(8 只),具体见表 1。实验鸡群人工输精,每个母鸡个体单独一个输精枪头,收集种蛋 12 d。种蛋标记,孵化盒分装孵化,雏鸡隔离饲养。

### 1.2 样品采集与处理

43 周龄采集惠阳胡须鸡和汶上芦花鸡无菌抗凝血 1.5 mL,并同时采集精液。对试验组后代采集 1 日龄胎粪,42 日龄泄殖腔拭子、无菌抗凝血血液,死亡实验鸡群的肝组织。胎粪和泄殖腔拭子:检测前反复冻融 3 次,静置取上清。血液、精液和肝组织处理及其病毒分离见参考文献<sup>[14,18-19]</sup>。

表 1 实验母鸡分组情况

Table 1 Grouping situation of roosters and hens

组别 Groups	公鸡 Roosters	S/P 值 S/P value	母鸡 Hens	S/P 值 S/P value
阳性♂×阴性♀	A 阳性惠阳胡须鸡	0.877	阴性芦花鸡 8 只	—
	B 阳性惠阳胡须鸡	1.856		—
	C 阳性惠阳胡须鸡	4.328		—
阴性♂×阳性♀	D 阴性芦花鸡	—	阳性惠阳胡须鸡 8 只	0.2~1
	E 阴性芦花鸡	—		1~2
	F 阴性芦花鸡	—		>2
阴性♂×阴性♀	G 阴性芦花鸡	—	阴性芦花鸡 8 只	—

### 1.3 p27 抗原 ELISA 检测

血浆病毒分离细胞上清,“1.2”中收取的毒液,冻融后的胎粪与泄殖腔拭子上清,用 ALV p27 抗原试剂盒检测,具体操作按照 IDEXX 公司 ELISA 试剂盒说明书进行。

### 1.4 前病毒 cDNA 的制备

根据病毒分离 ELISA 检测结果,收取阳性的 DF-1 细胞沉淀,按 OMEGA 公司 SQTISSUE 组织 DNA 试剂盒说明书制备前病毒基因组 cDNA, -20 °C 保存备用。

### 1.5 分离株 *env* 基因的 PCR 扩增和序列分析

针对 *env* 基因设计并合成一对通用引物,用于扩增 ALV 囊膜蛋白 *env* 基因约 2.6 kb 片段(上游引物 5'-CGAGAGTGGCTCGCGAGATGG-3';下游引物 5'-ACACTACATTTCCCCCTCCCTAT-3')。以前病毒基因 cDNA 为模板,PCR 扩增 ALV 囊膜蛋白 *env* 基因,片段大小约 2.6 kb。阴性对照为 DF-1 细胞 DNA,阳性对照为 ALV-J NX0101 株。反应条件:96 °C 预变性 7 min;95 °C 变性 50 s,58 °C 退火 50 s,72 °C 延伸 2 min,32 个循环,72 °C 延伸 7 min。PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳鉴定,采用 TaKaRa 公司 DL5000 Marker,产物回收、纯化后扩增克隆至 pMD18-T 载体中测序。

### 1.6 数据统计与分析

采用 SPSS16.0 *t* 检验对 p27 抗原阳性率进行比较分析,采用 Blast 和 MEGA4.0 程序进行序列比对和聚类分析。

## 2 结果

### 2.1 阳性公、母鸡后代 ALV 检测结果

后代 ALV 检测结果(表 2)表明,阳性公鸡后代的胎粪 p27 抗原阳性率为 23.49%,42 日龄泄殖腔

拭子 p27 抗原阳性率为 36.60%,42 日龄病毒分离阳性率为 8.54%;阳性母鸡后代的胎粪 p27 抗原阳性率为 12.42%,42 日龄泄殖腔拭子 p27 抗原阳性率为 19.89%,42 日龄病毒分离阳性率为 0%;阳性公鸡后代的胎粪、泄殖腔拭子和病毒分离阳性率显著高于阳性母鸡后代。

### 2.2 病毒分离检测阳性鸡 S/P 值高低与后代 ALV 检测阳性率的相关性

病毒分离检测 S/P 值高低与后代 ALV 检测阳性率的相关性分析结果(表 3)表明,输精个体 S/P 值的高低与后代阳性率无相关性( $P>0.05$ )。

### 2.3 胎粪、泄殖腔拭子与病毒分离 p27 抗原检测阳性率比较

对胎粪、泄殖腔拭子与病毒分离 p27 抗原检测阳性率进行比较,发现当公鸡为阳性时,在后代胎粪检测为阴性群体中,病毒分离检测却检测到 3 个阳性个体,胎粪检测阳性个体与病毒分离检测阳性个体的符合率为 85%。说明胎粪检测有一定的漏检率。42 日龄棉拭子检测的阳性个体与病毒分离阳性个体的阳性符合率为 100%。

### 2.4 病毒分离阳性个体 *env* 基因的 PCR 扩增和测序

ALV *env* 基因 PCR 扩增产物大小在 2 600 bp 左右,琼脂糖凝胶电泳结果见图 1。

### 2.5 分离株 *env* 基因核苷酸序列分析

利用 Blast 对分离株 *env* 的 *gp85* 基因序列与 GenBank 数据库比对,结果表明,测序序列与已报道的 ALV-J 亚型序列(登录号 AF247385.1、KF796647.1、KT598484.1、GU222401.1、KT598483.1、JX855935.1)相似性>95%。该分离株的 *gp85* 序列与 A、B、J 亚型参考株的 *gp85* 基因序列进行遗传演化分析,如图 2 中显示,该序列与 J 亚型聚在同一分支,进一步证明该毒株为 J 亚型。

表 2 阳性公、母鸡后代 p27 抗原检测

Table 2 p27 antigen detection result of ALV-positive roosters and hens

指标 Index	阳性公鸡后代 Offsprings of ALV-positive roosters		阳性母鸡后代 Offsprings of ALV-positive hens	
	组别 Group	阳性率/% Positive rate	组别 Groups	阳性率/% Positive rate
	胎粪 p27 抗原 p27 antigen from meconium	<b>A</b>	22.50(18/80)	<b>D</b>
	<b>B</b>	21.05(16/76)	<b>E</b>	12.70(8/63)
	<b>C</b>	26.92(21/78)	<b>F</b>	12.07(7/58)
	$\bar{x}$	23.49±0.03*	$\bar{x}$	12.42±0.00
泄殖腔拭子 p27 抗原 p27 antigen from cloacal swabs	<b>A</b>	36.36(28/77)	<b>D</b>	19.05(12/63)
	<b>B</b>	34.25(25/73)	<b>E</b>	20.97(13/62)
	<b>C</b>	39.19(29/74)	<b>F</b>	19.64(11/56)
	$\bar{x}$	36.60±0.01*	$\bar{x}$	19.89±0.01
病毒分离 p27 抗原 p27 antigen from plasma	<b>A</b>	8.75(7/80)	<b>D</b>	0(0/63)
	<b>B</b>	7.89(6/76)	<b>E</b>	0(0/63)
	<b>C</b>	8.97(7/78)	<b>F</b>	0(0/58)
	$\bar{x}$	8.54±0.01*	$\bar{x}$	0

阳性公鸡后代与阳性母鸡后代相比, \* .  $P < 0.05$  ( $t$  检验)

Compared with offsprings of ALV-positive hens, \* .  $P < 0.05$  ( $t$  test)

表 3 阳性公、母鸡 43 周龄病毒分离 S/P 值与其后代 ALV 阳性率的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of amount of ALV carried or shed by ALV-positive roosters and hens and positive rate of p27 antigen in their offsprings

动物及相关性分析 Animal and correlation analysis	S/P 值 S/P value	胎粪 p27 抗原阳性率/% Positive rate of p27 antigen from meconium	泄殖腔拭子 p27 抗原阳性率/% Positive rate of p27 antigen from cloacal swabs	病毒分离 p27 抗原阳性率/% Positive rate of p27 antigen from plasm
		阳性公鸡 Positive roosters	0.877 1.856 4.328	22.50(18/80) 21.05(16/76) 26.92(21/78)
相关性分析 Correlation analysis	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$	
阳性母鸡 Positive hen	0.2~1 1~2 >2	12.50(8/64) 12.70(8/63) 12.07(7/58)	19.05(12/63) 20.97(13/62) 19.64(11/56)	0(0/63) 0(0/63) 0(0/58)
相关性分析 Correlation analysis	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$	

### 3 讨论

#### 3.1 试验组个体与检测时间点的选择

本试验开展的前提基础是能准确筛选出阳性鸡

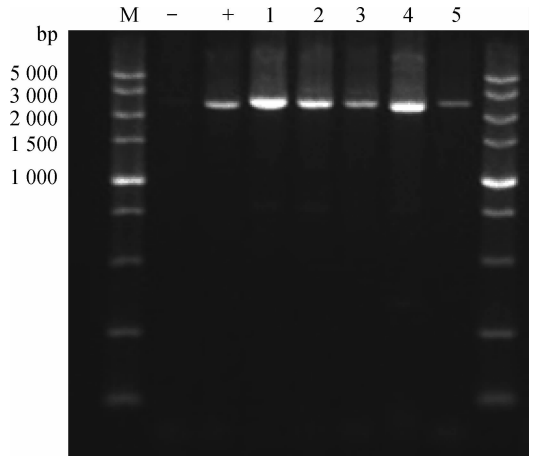
个体和阴性鸡个体。根据发病鸡的表型和实验室检测可准确检测出禽白血病阳性个体,但是阴性个体确定十分困难。为确保试验的准确性,惠阳胡须鸡阳性个体确定是通过 43 周龄血液病毒分离检测阳

性结果,结合试验后期病症解剖观测;汶上芦花鸡阴性个体是通过 43 周龄血液病毒阴性结果,结合家系病史追溯,要求筛选出的阴性个体上 3 个世代家系内没有出现禽白血病个体。

在前期工作中对地方鸡种进行了排毒规律摸索,发现 5 周龄排毒量最高<sup>[18]</sup>,结合生产的需要(6 周龄进行筛选鸡群进行转群),试验确定在 6 周龄对试验组后代个体进行禽白血病病毒分离检测。通过 PCR 扩增测序和遗传聚类分析,确定本试验个体感染毒株为 J 亚型禽白血病病毒。

### 3.2 ALV 通过阳性公鸡(母鸡)传播后代的规律

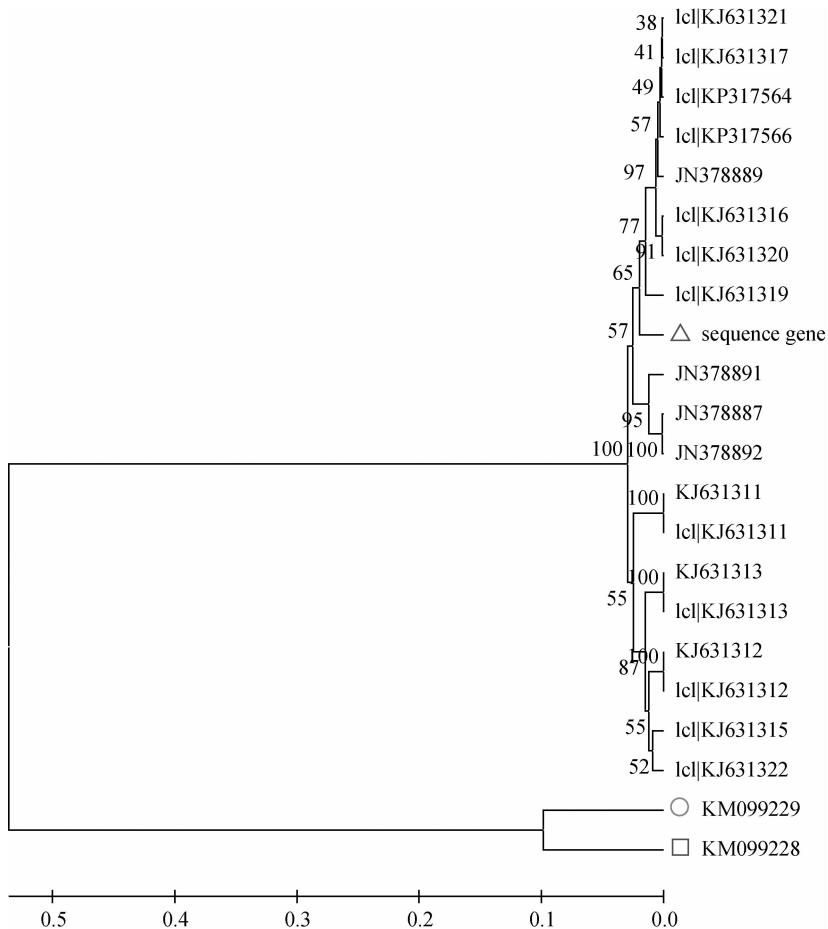
赵鹏等<sup>[20]</sup>研究发现种蛋中禽白血病病毒 p27 抗原检出率与鸡群禽白血病发病率呈正相关。本试验结果进一步验证了 ALV 可通过公鸡精液传播给后代,且公鸡在 ALV 传播给后代过程中起重要作用。



M. DL5000 相对分子质量标准;1~5. ALV env 基因扩增产物

M. DL5000 marker;1-5. Amplification products of ALV env

图 1 ALV env 基因的 PCR 扩增  
Fig. 1 PCR amplification of ALV env



△. 本研究分离毒株序列;○. ALV-B gp85 基因序列;□. ALV-A gp85 基因序列

△. Sequence of isolated strain in this study;○. gp85 gene sequence of ALV-B;□. gp85 gene sequence of ALV-A  
图 2 不同亚型禽白血病毒株 gp85 基因序列的遗传演化分析

Fig. 2 Phylogenetic analysis of gp85 gene sequence of avian leukosis viruses strains subtype A, B and J

试验发现禽白血病阳性公鸡后代病毒分离的阳性率为 8.54%，禽白血病阳性母鸡后代没有发现阳性个体；且阳性公鸡后代的胎粪 p27 抗原、泄殖腔拭子 p27 抗原与血液病毒分离阳性率显著高于阳性母鸡后代。该研究结果进一步验证了张培培等<sup>[13,17]</sup>的研究结果，更进一步得出了阳性公鸡对 ALV 的垂直传播影响较大的结论。对于在阳性母鸡后代中没有发现阳性个体，分析主要有几方面原因：一是品种原因，不同品种对 ALV 的易感性不同；且本试验是杂交试验，有可能增强了鸡的抵抗力；二是本试验并非 SPF 鸡，鸡本身存在抗体；三是采取了母鸡单个输精枪头；四是可能与检测的时间点有关；课题组对试验鸡群将继续饲养检测进行进一步验证。

试验结果提示在禽白血病净化过程中，应加大对公鸡的检测力度，建议采取血液病毒分离和精液病毒分离相结合的方法<sup>[17]</sup>。

### 3.3 阳性鸡 S/P 值大小对后代阳性率影响

本试验禽白血病检测使用的 ELISA 试剂盒，其阳性判定标准为  $S/P > 0.2$ 。S/P 值高低与后代阳性率是否存现相关性，相关报道较少。郝建勇等<sup>[15]</sup>研究表明，在蛋清 ELISA 检测时，S/P 值高低与对应母鸡外源性 ALV 病毒血症有一定的相关性。本试验结果发现 43 周龄血液病毒分离检测为阳性个体的 S/P 值高低与后代的阳性率没有显著的相关性。

### 3.4 不同检测方法阳性率比较

针对胎粪、泄殖腔拭子的假阳性和漏检等研究报道很多，陈俊霞等<sup>[21]</sup>研究发现，胎粪 p27 抗原检测和泄殖腔拭子 p27 抗原检测均有较高的假阳性，并且有一定的漏检。俞燕等<sup>[18]</sup>也发现泄殖腔拭子有较高的假阳性，且有漏检。

本试验发现，胎粪 p27 抗原与泄殖腔棉拭子 p27 抗原检测存在较高的假阳性，尤其是泄殖腔棉拭子 p27 抗原检测假阳性较高。在胎粪 p27 抗原检测阴性个体中，血液病毒分离 p27 抗原检测出现了 3 个阳性个体，胎粪检测漏检率为 15%。42 日龄泄殖腔拭子 p27 抗原检测结果与病毒分离检测符合率为 100%。对禽白血病进行净化，一般情况下，前期检测（胎粪、42 日龄血液病毒分离）采取的是家系淘汰法，即一个个体为阳性，家系后代全部淘汰，增加了净化工作量和成本。因此建议不进行胎粪及泄殖腔拭子 ALV 检测。

在 AL 的防控中，除了对种群进行 ALV 检测及

时淘汰阳性个体，还应制定严格的饲养管理措施。孵化、育雏、疫苗免疫、输精等是影响禽白血病水平传播的重要途径，生产中对新疫苗及时进行禽白血病检测，疫苗注射在不同品种间换针头，多品种一起继代繁殖时，每个品种（家系）使用固定的输精杯，阳性率高、低品种分开孵化出雏。

## 4 结 论

在地方品种惠阳胡须鸡和汶上芦花鸡中，ALV 阳性公鸡后代的阳性率显著高于阳性母鸡后代，血液病毒分离检测阳性鸡 S/P 值高低与后代阳性率没有显著相关性，ALV 胎粪检测和泄殖腔棉拭子具有较高的假阳性率。研究结果为进一步制定更合理的禽白血病净化方案提供了理论依据。

## 参考文献 (References):

- [1] PAYNE L N, HOWES K, ADENE D F. A modified feather pulp culture method for determining the genetic susceptibility of adult chickens to leukosis-sarcoma viruses[J]. *Avian Pathol*, 1985, 14(2):261-267.
- [2] ROSENBERG N, JOLICOEUR P. Retroviral pathogenesis[M]//COFFIN J M, HUGHES S H, VAR-MUS H E. Retroviruses. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1997.
- [3] 王 鑫, 赵 鹏, 崔治中. 我国地方品种鸡分离到的一个禽白血病病毒新亚群的鉴定[J]. *病毒学报*, 2012, 28(6):609-614.  
WANG X, ZHAO P, CUI Z Z. Identification of a new subgroup of avian leukosis virus isolated from Chinese indigenous chicken breeds[J]. *Chinese Journal of Virology*, 2012, 28(6):609-614. (in Chinese)
- [4] ZHANG Q C, ZHAO D M, GUO H J, et al. Isolation and identification of a subgroup a avian leukosis virus from imported meat-type grand-parent chickens[J]. *Virol Sin*, 2010, 25(2):130-136.
- [5] FURUKAWA S, TSUKAMOTO K, MAEDA M. Multicentric histiocytosis related to avian leukosis virus subgroup J (ALV-J)-infection in meat-type local chickens[J]. *J Vet Med Sci*, 2014, 76(1):89-92.
- [6] FENG M, DAI M M, LIAO M, et al. Establishment of an avian leukosis virus subgroup a-resistant cell line[J]. *J Integr Agric*, 2017, 16(4):930-936.
- [7] PAYNE L N, BROWN S R, BUMSTEAD N, et al. A novel subgroup of exogenous avian leukosis virus in chickens[J]. *J Gen Virol*, 1991, 72(Pt 4):801-807.

- [8] ZHANG X H, YAN Z Q, LI X J, et al. GADD45 $\beta$ , an anti-tumor gene, inhibits avian leukosis virus subgroup J replication in chickens[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(42):68883-68893.
- [9] TSUKAMOTO K, HASEBE M, KAKITA S, et al. Sporadic congenital transmission of avian leukosis virus in hens discharging the virus into the oviducts[J]. *J Vet Med Sci*, 1992, 54(1):99-103.
- [10] PAYNE L N, NAIR V. The long view: 40 years of avian leukosis research[J]. *Avian Pathol*, 2012, 41(1):11-19.
- [11] SEGURA J C, GAVORA J S, SPENCER J L, et al. Semen traits and fertility of white leghorn males shown to be positive or negative for lymphoid leukosis virus in semen and feather pulp[J]. *Br Poult Sci*, 1988, 29(3):545-553.
- [12] SMITH E J, FADLY A M. Male-mediated venereal transmission of endogenous avian leukosis virus[J]. *Poult Sci*, 1994, 73(4):488-494.
- [13] 张培培. 仿土蛋鸡 J 亚型禽白血病的感染状态评估及其来源探究[D]. 济南: 山东农业大学, 2013:1-53.  
ZHANG P P. An evaluation of the infection status and source of subgroup j avian leukosis virus in cloned free-range layers[D]. Ji'nan: Shandong Agricultural University, 2013:1-53. (in Chinese)
- [14] 俞燕, 徐步, 范建华, 等. 种公鸡精液禽白血病病毒检测方法研究及初步应用[J]. 中国家禽, 2015, 37(22):14-19.  
YU Y, XU B, FAN J H, et al. Comparison and preliminary application of detection methods for avian leukosis virus in breeder cocks' semen[J]. *China Poultry*, 2015, 37(22):14-19. (in Chinese)
- [15] 郝建勇, 秦建如, 邱倩倩, 等. 不同样品对黄羽种鸡禽白血病病毒净化检测效果的影响[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(6):29-34.  
HAO J Y, QIN J R, QIU Q Q, et al. Effects of different samples on avian leukosis virus eradication and detection in yellow feather breeders[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2015, 36(6):29-34. (in Chinese)
- [16] 饶明章, 袁丽霞, 赵子君, 等. 黄羽祖代公鸡精液作为禽白血病净化检测材料的应用研究[J]. 畜牧兽医学报, 2017, 48(1):124-131.  
RAO M Z, YUAN L X, ZHAO Z J, et al. Applied research of yellow feather grandparent roosters semen as test sample in avian leukosis eradication program[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2017, 48(1):124-131. (in Chinese)
- [17] LI Y, CUI S, LI W H, et al. Vertical transmission of avian leukosis virus subgroup J (ALV-J) from hens infected through artificial insemination with ALV-J infected semen[J]. *BMC Vet Res*, 2017, 13:204.
- [18] 俞燕, 朱鸿媛, 高明燕, 等. 地方鸡种禽白血病病毒感染动态及检测方法比较[J]. 中国家禽, 2014, 36(8):23-26.  
YU Y, ZHU H Y, GAO M Y, et al. Dynamic change and different detection methods for avian leukosis virus in indigenous chickens during brooding and rearing periods[J]. *China Poultry*, 2014, 36(8):23-26. (in Chinese)
- [19] 许国洋, 付利芝, 杨金龙, 等. 不同样本对禽白血病 ELISA 检测结果的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016(7):167-169.  
XU G Y, FU L Z, YANG J L, et al. Effect of different samples on avian leukosis detection result with ELISA kits[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2016(7):167-169. (in Chinese)
- [20] 赵鹏, 崔治中, 马诚太. 种蛋中禽白血病病毒 p27 抗原检出率与鸡群禽白血病发病率的相关性研究[J]. 畜牧兽医学报, 2012, 43(10):1618-1622.  
ZHAO P, CUI Z Z, MA C T. Detection of antigen P27 in eggs and its correlation with the avian leukosis virus infection in different breeder or commercial chickens[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2012, 43(10):1618-1622. (in Chinese)
- [21] 陈俊霞, 范建华, 许书珍, 等. 不同类型鸡泄殖腔棉拭子禽白血病病毒 p27 抗原检测与病毒分离的相关性分析[J]. 中国兽医学报, 2017, 37(4):637-642.  
CHEN J X, FAN J H, XU S Z, et al. Correlation analysis of antigen p27 detection in cloacal swab and avian leukosis viral isolation in different types of chicken breeds[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2017, 37(4):637-642. (in Chinese)