

网络出版时间:2016-07-12 08:45

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2016.08.003

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20160712.0845.006.html>

家兔 *XKR4* 基因遗传多态性及其与生长性能的相关性

吴周林^{1,2}, 曾 予¹, 贾先波¹, 陈仕毅¹, 王 杰¹, 赖松家¹

(1 四川农业大学 动物科技学院, 四川 温江 611130; 2 四川民族学院 环境与生命科学系, 四川 康定 626001)

[摘 要] **【目的】**研究家兔 *XKR4* 基因的遗传多态性, 并分析其与家兔生长速度的相关性。**【方法】**以新西兰兔(184只)和伊拉兔(193只)为研究材料, 取其耳部组织, 提取DNA, PCR扩增*XKR4*基因, 采用直接测序法寻找CDS区单核苷酸多态性(SNP)位点, 利用HRM技术对突变位点进行分型, 并分析其与生长性状的相关性。**【结果】**在家兔*XKR4*基因内检测到3个SNP位点(内含子1中的c.804-8C>T及外显子3中的c.1668C>T和c.1698C>T)。针对外显子3中的2个SNP位点, 对40个样本直接测序, 结果发现仅存在CC和CT 2种基因型, 且处于完全连锁状态。对2种兔突变位点的群体遗传参数分析发现其总杂合度为0.287 1, 总有效等位基因数为1.402 7, 多态性属于中等多态, 表明该群体在该位点的遗传变异较高, 有较大的选择潜力, 可以利用该位点进行与生长性状相关的标记辅助选择。关联性分析发现, CTCT单倍型个体70日龄体质量显著高于CCCC单倍型个体($P<0.05$), 且35到70日龄平均日增重极显著高于CCCC单倍型个体($P<0.01$)。**【结论】***XKR4*基因可作为影响家兔生长性状的候选基因。

[关键词] *XKR4* 基因; 单核苷酸多态性; 生长速度; 家兔; 关联性分析

[中图分类号] S829.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2016)08-0013-06

Polymorphisms of rabbit *XKR4* gene and its association with growth traits

WU Zhoulin^{1,2}, ZENG Yu¹, JIA Xianbo¹, CHEN Shiyi¹, WANG Jie¹, LAI Songjia¹

(1 College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Wenjiang, Sichuan 611130, China;

2 Department of Environment and Life Science, Sichuan Minzu College, Kangding, Sichuan 626001, China)

Abstract: **【Objective】**This work aimed to investigate the polymorphisms of rabbit *XKR4* gene and its association with growth traits. **【Method】**New Zealand (184) and Ira (193) rabbits were selected. Genomic DNA was extracted from ear tissues for studying polymorphism of *XKR4* gene by PCR. The polymorphisms in CDS of *XKR4* were identified by direct sequencing, and the genotypes of candidate single nucleotide polymorphisms (SNPs) were confirmed by HRM method. Furthermore, the correlations with growth traits were analyzed. **【Result】**A total of three SNPs (c.804-8C>T, c.1668C>T and c.1698C>T) were identified. For the two coding SNPs, there were two genotypes of CC and CT, which were completely linked by direct sequencing of 40 random rabbits from the two breeds. The total heterozygosity was 0.287 1 and the effective number of alleles was 1.402 7. The polymorphism information was at middle level in the two rabbit populations, indicating that the rabbit population had sufficient diversity for selection and improvement of production traits, and can be treated as markers. The association analysis revealed the individuals of

[收稿日期] 2015-01-04

[基金项目] 四川省“十二五”畜禽育种攻关项目(2011NZ0099-4); 国家现代农业技术体系项目(CARS-44-A-2)

[作者简介] 吴周林(1991—), 男(土家族), 重庆万州人, 硕士, 主要从事动物遗传育种研究。E-mail: wzlneil@126.com

[通信作者] 赖松家(1965—), 男, 成都金堂人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事动物遗传育种研究。E-mail: lsj5791@263.net

CTCT haplotype had significantly higher body weight at 70 days than that of CCCC ($P < 0.05$), and the average daily weight gain from 35 to 70 days was extremely significantly higher ($P < 0.01$). 【Conclusion】 XKR4 is one of the candidate genes affecting growth traits of rabbits.

Key words: XKR4 gene; single nucleotide polymorphism (SNP); growth rate; rabbits; association analysis

在人类红细胞中, Kell 蛋白是重要的 II 型膜糖蛋白, 属于具有锌肽链内切酶功能的脑啡肽酶 (M13) 家族成员, 具有内皮素 3 转化酶活性。在红细胞膜上, Kell 蛋白与 XK 蛋白通过共价二硫键而相互作用, 与红细胞膜的结构和功能相关, 可运输多种血型抗原^[1-3]。Kell 蛋白参与多种生物学过程, 主要包括通过影响血管平滑肌的增殖与收缩参与血压调节; 参与神经细胞的迁移和分化, 从而影响神经系统的发育过程等^[4-6], 其突变与神经系统异常有关^[7-8]。

Kell 血型系统相关亚单元家族 (XKR) 包括 XKR4、XKR5、XKR6、XKR7、XKR8、XKR9 共 6 个成员, 其中 XKR4 在生物体内除了与红细胞膜功能、神经系统发育有关外, 还参与到多种生物学过程中, 如细胞代谢、脂肪和糖类代谢及动物的生长、发育等过程。Bolormaa 等^[9]和 Neto 等^[10]研究发现, XKR4 基因周围及内部所检测到的单核苷酸多态性 (SNP) 位点与牛脂肪沉积的主效基因或数量性状座位 (QTL) 密切相关^[11-12], 是影响脂肪沉积的重要候选基因。此外, XKR4 基因突变会影响牛平均日采食量、剩余采食量和平均日增重^[13], 与牛的出生体质量和成年体质量相关^[14]。然而, 有关家兔 XKR4 基因多态性及其与生长性状关系的研究还未见报道。本试验对家兔 XKR4 基因的编码序列 (CDS) 的 SNP 进行了检测, 并分析其与家兔生长速度的相关性, 以期为提高家兔生长速度提供分子育种标记。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验动物为 2 个品种 377 只健康状况良好、无患病记录的家兔, 由成都市爱华畜牧科技有限公司提供, 其中新西兰兔 184 只, 伊拉兔 193 只。2 品种兔在相同饲养管理条件下, 于 28 日龄断奶后饲喂颗粒饲料 (粗蛋白 160 g/kg, 消化能 10.8 MJ/kg), 按照自由采食量的 80% 给料, 自由饮水。记录 35 日龄体质量 (W35) 和 70 日龄体质量 (W70), 计算出 35 到 70 日龄的平均日增重 (ADG)。剪取所有兔只耳组织, 放入盛有体积分数 75% 酒精的 EP 管中带

回实验室, 置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温保存。

1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 用眼科剪剪取约绿豆大小耳组织块, 去毛后放入干净 EP 管内, 充分搅碎, 用 DNA 提取试剂盒 (TIANGEN, Beijing) 提取基因组 DNA, 经核酸蛋白分析仪分析, OD_{260}/OD_{280} 值在 1.7~1.8, 经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测无拖尾现象, 表明其符合下一步试验要求。将合格的 DNA 于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱保存, 备用。

1.2.2 XKR4 基因的 PCR 扩增 参照 GenBank 上家兔 XKR4 基因的序列 (GenBank 登录号为: NC_013671.1), 利用 Primer Premier 5.0 软件设计 XK1~XK4 共 4 对引物 (表 1), 用于 XKR4 基因 CDS 区序列的分段扩增, 引物由北京六合华大基因公司合成。

随机选取 40 只个体, 对其 XKR4 基因进行 PCR 扩增。PCR 扩增体系为 10 μL , 其中包括: $2\times$ Taq PCR MasterMix 5.0 μL , 超纯水 3.2 μL , 上、下游引物 (10 pmol/ μL) 各 0.4 μL , DNA 模板 1.0 μL 。PCR 反应程序为: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 退火 30 s (退火温度依引物而定, 见表 1), $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 50 s, 34 个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min; $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.2.3 PCR 产物测序与 SNP 位点分析 随机取 40 只个体的 PCR 产物, 直接送到北京六合华大基因公司测序, 测序后使用 DNASTAR 软件进行序列拼接, 采用 SeqMan 软件分析变异位点, 确定每个个体各 SNP 位点的碱基类型, 并分析位点间的连锁性。

1.2.4 基因型的 HRM 分析 高分辨率熔解曲线 (HRM) 是一种高分辨率、快速、不受检测位点局限的主要用于 SNP 及突变分析的方法。针对在 CDS 区内检测到的 SNP 位点, 设计相应的 HRM 引物 XKA (表 1), 采用 HRM 技术对 377 只个体进行基因型分析。在 HRM 过程中每次均设置杂合子基因型、纯合子基因型以及空白样作对照。HRM 反应体系为 10 μL , 其中包括: $1\times$ SosoFast Supermix 5 μL , XKA 上、下游引物 (10 pmol/ μL) 各 0.4 μL , DNA 模板 1 μL , 超纯水 3.2 μL 。HRM 反应程序为: $98\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; $98\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s, $59.7\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火

30 s,40 个循环;95 ℃10 s 后进行熔解曲线分析,以每个循环上升 0.2 ℃从 65 ℃升温至 95 ℃。利用 Rotor Gene Q 仪器自带的 Precision Melt Analysis™软件进行基因型分析。

表 1 PCR 引物、HRM 引物信息

Table 1 Information of the primers used for PCR and HRM analysis

引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence(5'→3')	片段长度/bp Amplicon	退火温度/℃ Annealing	用途 Use
XK1	F:CGCCGTGGACTACTACCTG R:TGCTGCCCTTCCCTTATT	753	56.2	片段扩增 Amplification
XK2	F:GCACCTTATGCTTCGTCA R:ACAGTTCCTCGGATTGTC	534	64.0	片段扩增 Amplification
XK3	F:ACTGCTGCCTGTGACTTGA R:CTTGGTGACTGCCGAAT	648	52.0	片段扩增 Amplification
XK4	F:CGCTGTCGGCTGTTCACT R:CCTGCTGTCACCCTTCAACT	645	58.4	片段扩增 Amplification
XKA	F:CGTCGCTGCCTTCACTCT R:ATTCTTCAATCCGTGGTGG	185	59.7	HRM 分型 PCR-HRM

1.2.5 统计分析 用 SeqMan 软件分析 XKR4 基因的变异位点。通过直接计算求得等位基因频率及基因型频率。参照 Nei 等^[15]的方法分析突变位点杂合度(He)、有效等位基因数(Ne)及多态信息含量(PIC)。采用 SPSS(13.0)软件进行 χ^2 检验。各基因型对生长性状的影响采用最小二乘法分析,关联分析采用 SAS 9.2 程序的一般线性模型进行:

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + M_j + B_k + e_{ijkl}.$$

式中:Y_{ijkl}代表各生长性状记录值,μ为群体平均值,G_i为性别效应,M_j为 XKR4 基因型效应,B_k为品种效应,e_{ijkl}为随机误差。XKR4 基因突变位点对表型的加性效应和显性效应分别用 a 和 d 表示,将 |d/a| 的值用于评估不同差异水平下的基因效应,其评估标准参见文献[16-17],简言之,|d/a| < 0.2,为加性效应;|d/a| 的值在 0.2~1.2,为不完全显性或显性;当 |d/a| > 1.2,为超显性。

2 结果与分析

2.1 家兔 XKR4 基因的多态性分析

对随机选取的 40 只个体的 XKR4 基因进行扩增、测序,分析结果共发现 3 个 SNP 位点,一个位于内含子 1 内,命名为 c.804-8C>T,由于内含子区碱基变异不会直接影响到蛋白质的功能,因此下文未对该位点进行基因分型;2 个位于外显子 3 内,分别命名为 c.1668C>T 和 c.1698C>T,这 2 个 SNP 位点均未引起氨基酸改变,属于同义突变。针对外显子 3 内这 2 个同义突变 SNP 位点,在新西兰兔和伊拉兔中均未检测到 TT 基因型,仅检测出 CC 和 CT 基因型,分析发现 2 位点完全连锁,因此一共有 CCCC 和 CTCT 2 种单倍型组合,单倍型 CCCC 和 CTCT 分别代表了基因型 CC 和 CT 的遗传信息。

2.2 HRM 分型结果

由图 1 可知,HRM 可将 XKR4 基因外显子 3 内 c.1668C>T 和 c.1698C>T 位点分为 CC 和 CT 2 种基因型,分型结果与所选 40 个个体的直接测序验证结果完全一致。对部分无法断定的样本重新分型以确定其基因型,最后通过 HRM 成功地确定 377 个个体的基因型和单倍型。

2.3 家兔 XKR4 基因遗传结构及其与生长性状的关联性分析

根据 HRM 分型结果对家兔 XKR4 基因 c.1668C>T 和 c.1698C>T 位点的群体遗传结构进行分析,结果(表 2)表明:新西兰兔中 CC 和 CT 基因型个体分别有 134 和 50 只,伊拉兔中 CC 和 CT 基因型个体分别为 112 和 81 只;新西兰兔和伊拉兔的优势基因型均为 CC 型,其基因型频率分别为 0.73 和 0.58,C 等位基因的频率分别为 0.86 和 0.79。本研究中新西兰兔和伊拉兔总群体杂合度(He)为 0.287 1,有效等位基因数(Ne)为 1.402 7,遗传多态性(PIC=0.245 9)呈中度多态; χ^2 检验结果表明,2 品种兔群均偏离哈温平衡状态。

关联性分析结果(表 3)表明,XKR4 基因 CDS 区突变位点与家兔生长性状相关,CTCT 单倍型个体 70 日龄体质量(W70)为(1 745.29±17.78) g/只,显著性高于 CCCC 型个体的(1 695.70±12.82) g/只(P<0.05);CTCT 单倍型个体 35 到 70 日龄平均日增重(ADG)为(27.85±0.48) g/日,极显著高于 CCCC 单倍型个体的(25.98±0.34) g/日(P<0.01)。基因对表型值的实际效应评估结果表明,W70 的 |d/a|=0.095,因此推断该突变对表型值表现为加性效应;ADG 的 |d/a|=5.07,为超显性效应。

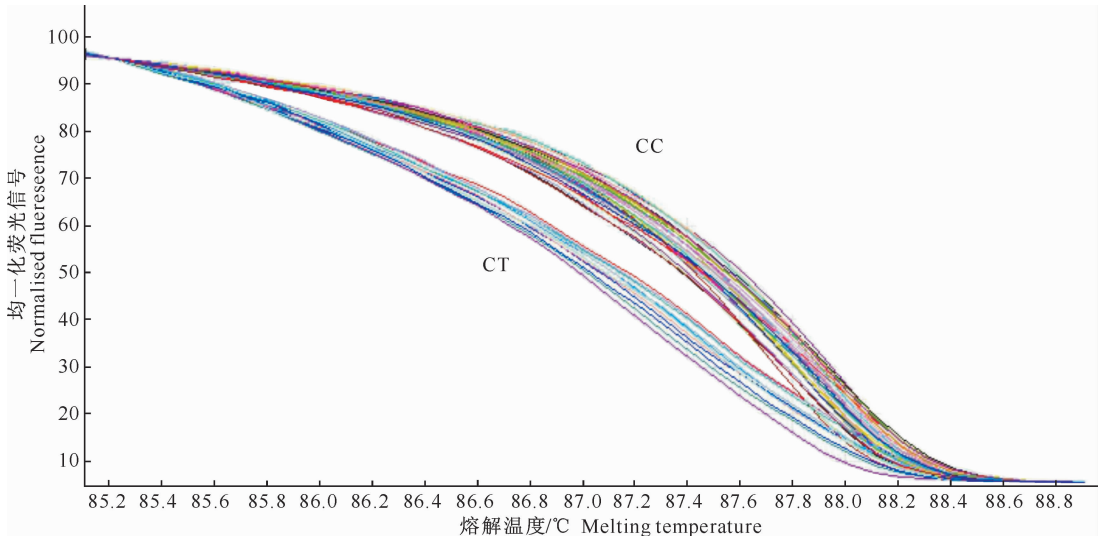


图 1 家兔 XKR4 基因型的 HRM 分析
Fig.1 HRM analysis of XKR4 genotypes

表 2 家兔 XKR4 基因外显子 3 中 c.1668C>T、c.1698C>T 位点的遗传结构分析
Table 2 Genetic structure analysis for SNP c.1668C>T and c.1698C>T of XKR4 exon 3

项目 Item	个体数	基因型频率 Genotype frequency		等位基因频率 Allele frequency		遗传参数 Genetic characteristics			卡方检验 χ^2 test
		CC	CT	C	T	He	PIC	Ne	
新西兰兔 New Zealand rabbit	184	0.73(134)	0.27(50)	0.86	0.14	0.234 8	0.207 2	1.306 9	5.497 6
伊拉兔 Ira rabbit	193	0.58(112)	0.42(81)	0.79	0.21	0.331 6	0.276 6	1.496 2	14.452 9
总群体 Total	377	0.65(246)	0.35(131)	0.83	0.17	0.2871	0.245 9	1.402 7	17.528 1

注:括号中的数据为个体数。 $\chi^2_{0.05(1)}=3.84$, $\chi^2_{0.01(1)}=6.64$ 。
Notes:The digits in brackets mean sample numbers. $\chi^2_{0.05(1)}=3.84$, $\chi^2_{0.01(1)}=6.64$.

表 3 家兔 XKR4 基因外显子 3 中突变位点各单倍型与生长性状的关联性分析
Table 3 Associations of different mutation site haplotypes of XKR4 exon 3 with growth traits of rabbits

性状 Traits	单倍型 Haplotypes		P 值 P value
	CCCC (246)	CTCT (131)	
35 日龄体重(W35)/(g·只 ⁻¹) Body weight at 35 days	786.46±7.64	770.70±10.60	0.231 6
70 日龄体重(W70)/(g·只 ⁻¹) Body weight at 70 days	1 695.70±12.82 b	1 745.29±17.78 a	0.025 2
平均日增重(ADG)/(g·日 ⁻¹) Average daily weight gain	25.98±0.34 B	27.85±0.48 A	0.001 7

注:同行数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。
Notes:Different lowercase letters mean significant difference ($P<0.05$),while different uppercase letters mean extremely significant difference ($P<0.01$).

3 讨 论

HRM 首次由 Witter 等^[18]提出,该方法采用饱和和荧光染料,通过实时监测 PCR 产物中 DNA 与饱和和荧光染料的结合情况,来反映核酸的熔解过程,得到特征性的熔解曲线,再根据熔解曲线的变化来判断核酸性质的差异,其具有灵敏度高、特异性强等优点,广泛用于 SNP 的检测。由于不同 DNA 分子的片段长度、GC 含量以及碱基构成不同,在加热变性时,随温度变化而形成的特定熔解曲线不同,从而可以确定 SNP 的存在。用 HRM 技术进行基因分型时,要求扩增的片段长度在 80~200 bp,且片段中只

有一个变异位点时能获得较好的结果。本试验针对家兔 XKR4 基因外显子 3 中的 2 个 SNP 位点设计一对 HRM 引物,其分型结果准确性高,与直接测序的结果完全一致。这可能与 XKR4 基因外显子 3 中的 2 个 SNP 位点相距较近及单倍型种类较少有关。

XKR4 基因参与红细胞膜的组成,虽然目前对其在动物体内的作用机制还不清楚,但有研究预测其主要参与细胞代谢、脂肪代谢以及糖类代谢过程^[19]。大量研究证明,牛 BTA14 一些区段很可能包含一些与采食量、肉质性状、生长速度等相关的 QTL^[20-21],在牛上 XKR4 基因位于 BTA14 内且与

Yuri T Utsunomiya 等^[14]报道的 SNP 相距仅 17.6 kb,预测其突变可能与牛的体质量以及屠宰性状相关。已有研究证明,*XKR4* 基因相关 SNP 位点与采食量、日增重、皮下脂肪厚度显著相关,*XKR4* 基因是影响牛生长发育的候选基因。本试验研究了家兔 *XKR4* 基因的遗传多态性,在外显子 3 内共发现 2 个 SNP(c. 1668C>T 和 c. 1698C>T)位点,通过直接对小样本测序发现二者完全连锁,这可能与家兔物种起源单一有关。本研究分析发现,位于 *XKR4* 基因外显子 3 内的突变对家兔的生长速度有显著影响,且缺少 TT 基因型,说明 TT 基因型拥有非常低的频率,这种现象显示在人工选择、迁移、遗传漂变过程中,家兔种群中 T 等位基因呈现减少的趋势,因而在群体中不易发现 TT 突变型。同时笔者还推测,TT 基因型可能是致病或致死基因型,从而在自然选择中被淘汰。 χ^2 适合性检验是基于卡方分布的非参数检验,用于判断测定群体是否处于哈代温伯格平衡状态。本研究所选取新西兰兔和伊拉兔群体均偏离哈温平衡状态,这可能是由于新西兰兔和伊拉兔群体规模有限所致,也可能是因为对该群体进行生长速度等性状的人工选择所造成的,该结果反映出本试验所研究的 2 个位点容易受到人工选育、迁徙和遗传漂变等因素的影响。同时,c. 1668C>T 和 c. 1698C>T 在新西兰兔($PIC < 0.2072$)呈低度遗传多态性,说明新西兰兔群遗传多样性偏低,这可能是由于新西兰兔群长期受到人工选择所造成的;其在伊拉兔($PIC < 0.2766$)呈中度遗传多态性,说明伊拉兔在这 2 个位点选择潜力较大,可增加其分子遗传的选择力度,使其向人们期望的方向发展。关联性分析结果表明,*XKR4* 的突变会显著或极显著提高家兔 W70 和 ADG,这与 Lindholm 等^[13]在牛上的研究结果一致。虽然该 SNP 突变位点没有导致氨基酸的改变,可能的作用机制是同义突变影响了基因的转录、翻译或者蛋白质结构及功能^[22-23],从而影响家兔的生长速度,但其潜在的生物学功能对家兔上市体质量、日增重的影响还需在更多品种和更大群体中进一步研究。

由于本试验选取的家兔品种仅 2 个、样本量偏小,且仅限于部分生长性状的关联分析,所以本结果还需进一步验证,以便为家兔新品种的培育提供辅助选择分子标记。

[参考文献]

- [1] Russo D, Redman C, Lee S. Association of XK and Kell blood group proteins [J]. Journal of Biological Chemistry, 1998, 273(22): 13950-13956.
- [2] Lee S, Zambas E D, Marsh W L, et al. Molecular cloning and primary structure of Kell blood group protein [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1991, 88(14): 6353-6357.
- [3] Lee S. Molecular basis of Kell blood group phenotypes [J]. Vox Sanguinis, 1997, 73(1): 11.
- [4] Motohashi T, Aoki H, Yoshimura N, et al. Induction of melanocytes from embryonic stem cells and their therapeutic potential [J]. Pigment Cell Res, 2006, 19(4): 284-289.
- [5] Nagy N, Goldstein A M. Endothelin-3 regulates neural crest cell proliferation and differentiation in the hindgut enteric nervous system [J]. Dev Biol, 2006, 293(1): 203-217.
- [6] McCallion A S, Chakravarti A. *EDNRB/EDN3* and hirschsprung disease type II [J]. Pigment Cell Research, 2001, 14(3): 161-169.
- [7] Lavedan C, Licamele L, Volpi S, et al. Association of the NPAS3 gene and five other loci with response to the antipsychotic iloperidone identified in a whole genome association study [J]. Mol Psychiatry, 2009, 14(8): 804-819.
- [8] Lantieri F, Glessner J T, Hakonarson H, et al. Analysis of GWAS top hits in ADHD suggests association to two polymorphisms located in genes expressed in the cerebellum [J]. American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics, 2010, 153(6): 1127-1133.
- [9] Bolormaa S, Neto L P, Zhang Y D, et al. A genome-wide association study of meat and carcass traits in Australian cattle [J]. Journal of Animal Science, 2011, 89(8): 2297-2309.
- [10] Porto N L, Bunch R, Harrison B, et al. Variation in the *XKR4* gene was significantly associated with subcutaneous rump fat thickness in indicine and composite cattle [J]. Animal Genetics, 2012, 43(6): 785-789.
- [11] Casas E, Shackelford S, Keele J, et al. Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle [J]. Journal of Animal Science, 2003, 81(12): 2976-2983.
- [12] Casas E, Shackelford S, Keele J, et al. Quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin [J]. Journal of Animal Science, 2000, 78(3): 560-569.
- [13] Lindholm-Perry A, Kuehn L, Smith T, et al. A region on BTA14 that includes the positional candidate genes *LYPLA1*, *XKR4* and *TMEM68* is associated with feed intake and growth phenotypes in cattle [J]. Animal Genetics, 2012, 43(2): 216-219.
- [14] Utsunomiya Y T, Do Carmo A S, Carvalheiro R, et al. Genome-wide association study for birth weight in Nellore cattle points to previously described orthologous genes affecting human and bovine height [J]. BMC Genetics, 2013, 14(1): 52.
- [15] Nei M, Roychoudhury A. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance [J]. Genetics, 1974, 76(2): 379-390.
- [16] Edwards M D, Helentjaris T, Wright S, et al. Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize

[J]. Theoretical and Applied Genetics,1992,83(6):765-774.

[17] Fontanesi L,Dall’olio S,Spaccapaniccia E,et al. A single nucleotide polymorphism in the rabbit growth hormone (*gh1*) gene is associated with market weight in a commercial rabbit population [J]. Livestock Science,2012,147:84-88.

[18] Wittwer C T,Reed G H,Gundry C N,et al. High-resolution genotyping by amplicon melting analysis using LCGreen [J]. Clin Chem,2003,49(6):853-860.

[19] Lee S,Sha Q,Wu X,et al. Expression profiles of mouse *Kell*, *XK*, and *XPLAC* mRNA [J]. Journal of Histochemistry and Cytochemistry Official Journal of the Histochemistry Society, 2007,55(4):365-374.

[20] Wibowo T A,Gaskins C T,Newberry R C,et al. Genome assembly anchored QTL map of bovine chromosome 14 [J]. International Journal of Biological Sciences, 2008, 4 (6): 406-414.

[21] Marques E,de Givry S,Stothard P,et al. A high resolution radiation hybrid map of bovine chromosome 14 identifies scaffold rearrangement in the latest bovine assembly [J]. BMC Genomics,2007,8:254.

[22] Sauna Z E,Kimchi-Sarfaty C. Understanding the contribution of synonymous mutations to human disease [J]. Nature Reviews Genetics,2011,12(10):683-691.

[23] Comeron J M. Selective and mutational patterns associated with gene expression in humans; influences on synonymous composition and intron presence [J]. Genetics,2004,167(3): 1293-1304.

(上接第 12 页)

[24] Sarma S S,Brena-Bustamante P,Nandini S. Body size and population growth of *Brachionus patulus* (Rotifera) in relation to heavy metal (copper and mercury) concentrations [J]. Environmental Science and Health,2008,43(5):547-553.

[25] 耿红,席贻龙,胡好远. 食物浓度对萼花臂尾轮虫种群增长、个体大小和卵大小的影响 [J]. 安徽师范大学学报(自然科学版),2002,25(1): 59-62.

Geng H,Xi Y L,Hu H Y. The effect of food concentration on population growth, body size and egg size of the rotifer *Brachionus calyciflouus* [J]. Journal of Anhui Normal University (Natural Science),2002,25(1):59-62.

[26] 党志超,于春燕,李永祺. 三丁基锡(TBT)对褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)的影响 [J]. 海洋环境科学,1993,12(2):6-10.

Dang Z C,Yu C Y,Li Y Q,et al. Effects of tributyltin on the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Marine Environmental Science,1993,12(2):6-10.