

# 猪 *POU1F1* 基因多态性与五指山猪 生长性能的相关研究

孙瑞萍<sup>1,2</sup> 魏立民<sup>1,2\*</sup> 郑心力<sup>1,2</sup> 黄丽丽<sup>1</sup> 刘圈伟<sup>1</sup> 晁哲<sup>1</sup> 王峰<sup>1,2\*</sup>

(1. 海南农科院畜牧兽医研究所, 海南 海口 571100; 2. 海南省家畜家禽工程技术研究中心, 海南 海口 571100)

**摘要:** 采用 PCR-SSCP、PCR-RFLP 技术对 6 个猪群共计 276 头猪的 *POU1F1* 基因的 4 个位点的多态性进行多态性分析, 在针对 Intron1 设计的 2 对引物扩增的片段中分别发现 1 处突变位点, 各存在 2 个等位基因(A 和 B、C 和 D); 在引物 P2 位点, 海南 4 个品系的猪种(五指山猪、五指山猪近交系、临高猪、屯昌猪)均没有发现多态性, 而在滇南小耳猪、香猪 2 个猪种中 BB 基因型频率较 AA 基因型频率占优势, 群体遗传多态性检测处于中度多态; 在引物 P3 位点, 在 6 个猪群体中 DD 基因型频率较 CD 基因型频率占优势, 群体遗传多态性检测均处于中度多态。SPSS 软件分析五指山猪 *POU1F1* 基因 P3 位点的多态性与 3 个生长阶段及其日增重的关联程度, 结果表明 P3 位点不同基因型对五指山猪 3 个阶段的生长及日增重间均无显著差异。

**关键词:** 猪; *POU1F1* 基因; SNP; 多态性

中图分类号: S828.212 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)04-0775-06

## Relationship between Single Nucleotide Polymorphism of *POU1F1* Gene and the Growth Traits of Local Pig Breeds

SUN Rui-ping<sup>1,2</sup>, WEI Li-min<sup>1,2\*</sup>, ZHENG Xin-li<sup>1,2</sup>,  
HUANG Li-li<sup>1</sup>, LIU Quan-wei<sup>1</sup>, CHAO Zhe<sup>1</sup>, WANG Feng<sup>1,2\*</sup>

(1. Institute of Animal Science and Veterinary Medicine, Hainan Academy of Agricultural Science, Haikou 571100, China; 2. Hainan Provincial Engineering Research Center for Livestock and Poultry Cultivation, Haikou 571100, China)

**Abstract:** Six Chinese local pig breeds were used as experimental examples, a mutation in intron of *Pit-1* gene was found by using PCR-SSCP analysis. The result of population genetics analyses showed that in the mutation of P2, the frequency of BB genotype was significantly higher than that of AA genotype in Diannan Small ear pig and Xiang pig and there was no polymorphism in Hainan native pigs. In the mutation of P3, the frequency of CD genotype was significantly higher than that of DD genotype and had intermediate polymorphism in the six Chinese local breeds. The least square analysis showed that the different genotypes of intron1 of *POU1F1* gene did not affect WZSP body weight of 2 month, 4 month, 8 month and daily gain.

**Key words:** pig; *POU1F1*; SNP; polymorphisms

收稿日期: 2011-12-07 修回日期: 2012-05-07

基金项目: 海南省自然科学基金项目(309018)、海南省重点科技项目(琼财预[2005]1173号)和海南省科学事业基金项目(琼财预[2010]139号)

作者简介: 孙瑞萍(1982—), 女, 硕士生, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究, E-mail: ruiping937@126.com; \* 与第一作者同等贡献, \* 通讯作者: 王峰, 副研究员, E-mail: hxmsjx@126.com。

垂体转录因子(POU domain class 1 transcription factor 1, POU1F1, 原称 Pit-1) 基因是 POU 基因家族的成员之一, 是重要的组织特异性转录因子。研究表明 POU1F1 基因的突变可以导致垂体的发育不全, 并阻碍 GH、PRL、TSH $\beta$  基因的正常表达, 从而使个体因多种垂体激素的缺乏而导致生长缓慢和矮小现象的出现<sup>[1-5]</sup>。猪 POU1F1 基因位于 13 号染色体 q46 区域, cDNA 全长 876 bp, 编码 292 个氨基酸, 包含 6 个外显子<sup>[6]</sup>。早期研究发现猪 POU1F1 基因座位与胴体性状<sup>[7-8]</sup>、生长性状<sup>[9-11]</sup>、肉质性状<sup>[7]</sup> 等存在显著关联。目前, 关于猪 POU1F1 基因多态研究主要集中在该基因中、下游区域, 对第一内含子多态性的研究较少<sup>[12]</sup>。本文在前期研究的基础上, 选用 6 个猪种群体共 276 头作为试验材料, 利用 PCR-RFLP、PCR-SSCP 技术对 POU1F1 基因进行突变分析, 并将有突变位点的各基因型与五指山猪生长性状进行数据分析, 在 DNA 水平上探讨该突变和猪的生长是否存在相关, 为揭示猪 POU1F1 基因对生长发育调控机理研究提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

随机采集 6 个猪品种组织样共 276 份(表 1), 置于含体积分数为 70% 酒精离心管中, 冰盒带回实验室, 采用常规苯酚/氯仿抽提方法提取基因组 DNA, TE 溶解。取部分 DNA 样品稀释至 100 ng/ $\mu$ L, -20  $^{\circ}$ C 冻存储用。

### 1.2 引物

POU1F1 基因的引物 P1、P2、P4 引物序列均是方华、庞谨<sup>[13-14]</sup> 中的原有引物, 引物 P3 根方华<sup>[13]</sup> 进行设计, 送交上海生工生物技术有限公司合成。具体的序列如表引物序列、PCR 产物大小及所在位置见表 2。

### 1.3 PCR 扩增与 PCR 产物酶切

引物 P1 ~ P4 的 PCR 反应体系为 15  $\mu$ L: ddH<sub>2</sub>O (高压灭菌双蒸水) 4.5  $\mu$ L, Taq MIX 7.5  $\mu$ L (北京天根), 引物(10.5 pmol/ $\mu$ L) 各 0.75  $\mu$ L, DNA 模板 1.5  $\mu$ L。引物 P1 ~ P3 的 PCR 反应程序为: 94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 58  $^{\circ}$ C (P<sub>1</sub>) 55  $^{\circ}$ C (P<sub>2</sub>) 58  $^{\circ}$ C (P<sub>3</sub>) (表 2) 复性 45 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 32 个循环; 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4  $^{\circ}$ C 保存。引物 P4 的 PCR 反应程序为: 94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 61  $^{\circ}$ C 复性 1 min, 72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 30 个循环; 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4  $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物均用 15 g/L 的琼脂糖凝胶电泳检测。

PCR 产物用限制酶 Pst I、RsaI 进行消化, 酶切反应总体系为 15  $\mu$ L, 其中 PCR 扩增产物 5  $\mu$ L, 限制性内切酶 1.0  $\mu$ L (10 U/ $\mu$ L), RebX Buffer (含 BSA) 2  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 7  $\mu$ L, 置于 37  $^{\circ}$ C 3.5 h, RsaI 酶切产物经 15 g/L 琼脂糖凝胶电泳, 于 80 V 恒压电泳 1.5 h, Pst I 酶切产物用 5% 非变性聚丙烯酰胺凝胶 100 V 电泳 1.5 h, EB 染色, 美国 UVP 凝胶成像系统拍照。

表 1 实验材料来源

Tab. 1 The resource of experimental materials

品种 Breeds	样品采集地 Source of samples	样本含量 Number
五指山猪乌云系(W)	海南省农业科学院五指山猪原种场	100
五指山猪白系(WJ)	海南省农业科学院五指山猪原种场	40
滇南小耳猪(D)	云南省西双版纳自治州	30
香猪(X)	广西壮族自治区环江县香猪原种保种场	30
临高猪(L)	海南省临高县种猪场	36
屯昌猪(T)	海南省屯昌县屯牧种猪场	40

### 1.4 SSCP 分析

3  $\mu$ L PCR 产物和 6  $\mu$ L 加样缓冲液(980 g/L 甲酰胺、0.25 g/L 溴酚蓝、0.25 g/L 二甲苯氰、10 mmol/L EDTA (pH 8.0)、100 g/L 甘油) 混匀, 98  $^{\circ}$ C 变性 10 min, 然后冰浴至上样。变性后 PCR 产物用交联度(Acr: Bis) 为 29:1 的 12% 非变性聚丙烯酰胺凝胶 120 V 过夜电泳, 银染显色、拍照和分析。

表2 PCR扩增所用的引物序列、产物大小及位置  
Tab.2 Sequences of the primers, size and position of PCR product

编号 No.	引物序列(5'-3') Primer seq. (5'-3')	片段大小/bp Length	退火温度/℃ Annealing	片段位置 Position
P1	F: 5'-CAA TAA CGG TCT TCG GGT-3' R: 5'-CTT AGG TGT TTT GGC TTC-3'	156	58	Exon1_intron1
P2	F: 5'-GTG GAT AGG ATT TGG TC-3' R: 5'-TTT ACT TCC GAG GTT TA-3'	182	55	部分 intron1
P3	F: 5'-AACCTTTAGTTGAATACAGT-3' R: 5'-TAC AGT GGG GCA AGG ATG TT-3'	290	58	部分 intron1
P4	F: 5'-AGTGTAGCCAGAGCATCT-3' R: 5'-ACCACATCTGCACACTCA-3'	1 747	61	部分 intron4、 intron5、exon5、6

1.5 统计分析

1.5.1 基因频率和基因型频率的计算 设某一基因位点有 A 和 B 2 个等位基因,基因频率分别为  $p$  和  $q$  则:

$$p = (2X + Z) / 2N; q = (2Y + Z) / 2N \tag{1}$$

(1) 式中  $X$  为 AA 基因型个体数,  $Y$  为 BB 基因型个体数,  $Z$  为 AB 基因型个体数,  $N$  为总个体数。

基因型频率 = 基因型个体数 / 测定群体总数。

1.5.2 多态信息含量 (polymorphism information content; PIC) 的计算 用于对标记基因多态性的估计。 $PIC > 0.5$  为高度多态,  $0.5 > PIC > 0.25$  为中度多态,  $PIC < 0.25$  为低度多态。

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^m p_i^2 - \frac{m-1}{m} \sum_{i=1}^{m-1} \sum_{j=i+1}^m 2p_i^2 p_j^2 \tag{2}$$

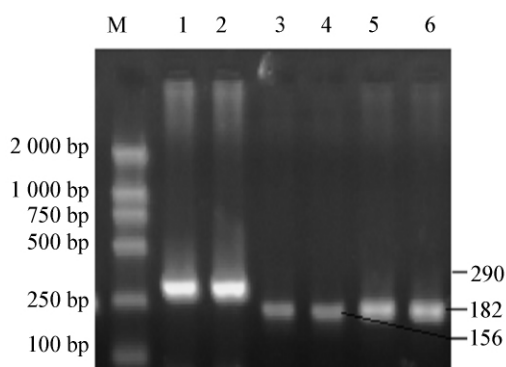
(2) 式中  $p_i$  和  $p_j$  分别为第  $i$  和第  $j$  个等位基因在群体中的频率,  $m$  为等位基因数。

1.5.3 统计分析 根据 PCR-SSCP 电泳图谱统计不同基因型在群体内的分布情况; PCR-RFLP、PCR-SSCP 标记条带效应值的最小二乘分析模型为:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + E_{ij} \tag{3}$$

(3) 式中:  $Y_{ij}$  为第  $i$  个个体的性状观察值,  $\mu$  为群体均值,  $G_i$  为第  $i$  个个体的基因型效应值,  $E_{ij}$  为随机误差。

根据以上线性模型,用 SPSS(13.0) 的 ANOVA 过程对五指山猪不同月龄体重数据进行方差分析。

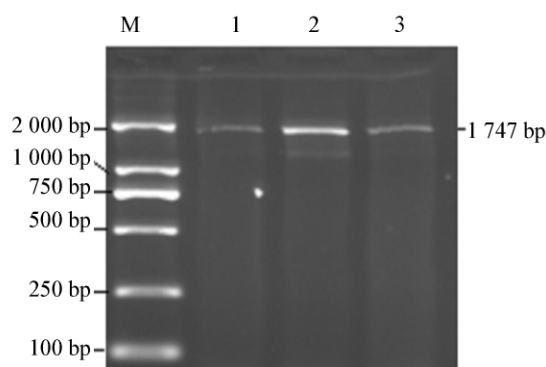


1 2: P3 的 PCR 产物; 3 4: P2 的 PCR 产物;  
5 6: P1 的 PCR 产物; M: DL2000。

1 2: PCR products of P3; 3 4 PCR products of P2;  
5 6: PCR products of P1; M: DL2000。

图1 引物 P1 ~ P3 的 PCR 产物电泳图

Fig.1 The gel electrophoresis photograph of P1 ~ P3 PCR products



1 2 3: P4 的 PCR 产物; M: DL2000。

1 2 3: PCR products of P4; M: DL2000。

图2 引物 P4 CR 产物电泳图

Fig.2 The gel electrophoresis photograph of P4 PCR products

## 2 结果与分析

### 2.1 *POU1F1* 基因 4 对引物的 PCR 扩增结果

用设计的引物对不同品种猪的 *POU1F1* 基因进行扩增,PCR 产物用 10 g/L 琼脂糖检测。发现特异性扩增良好(图 1、2),片段长度与预期的相符,可直接进行 SSCP、RFLP 分析。

### 2.2 *POU1F1* 基因的 SSCP、RFLP 检测结果

SSCP 检测后发现引物 P2、P3 的 PCR 片断 SSCP 分析表现有多态性,且均仅出现 2 种基因型,分别定义为 AA、BB 和 CD、DD(图 3、4);引物 P1 未见多态性。引物 P4 经 *RsaI* 酶切后没有多态性,而 *PstI* 酶切后,也仅发现 EE、EF 2 种基因型(图 5),但是 EF 基因型数量较少,因此仅对引物 P2、P3 的多态性进行探讨。

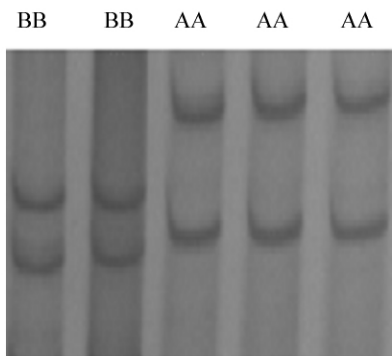


图 3 引物 P2 不同基因型个体的 SSCP 结果  
Fig. 3 PCR-SSCP patterns of primer P2

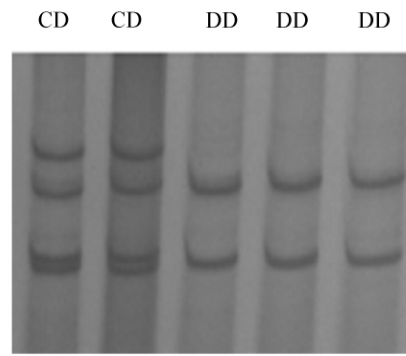


图 4 引物 P3 不同基因型个体的 SSCP 结果  
Fig. 4 PCR-SSCP patterns of primer P3

### 2.3 P2、P3 扩增片段的 PCR 产物测序

挑选 AA 基因型、BB 基因型、CD 基因型、DD 基因型个体各一,PCR 扩增纯化后直接送交测序公司进行 PCR 产物测序。测序结果和已发布的序列 AY948544 相对区域进行比对,可知 B 基因型第 1515 位发生了 T→C 的碱基突变,D 基因型第 2443 位发生了 C→T 的碱基突变。

### 2.4 *POU1F1* 基因群体遗传结构分析

由表 1 可见,在这 6 猪种中,在引物 P2 位点,海南 4 个品系的猪种(五指山猪、五指山猪近交系、临高猪、屯昌猪)均没有发现多态性,而在滇南小耳猪、香猪 2 个猪种中 BB 基因型频率较 AA 基因型频率占优势,群体遗传多态性检测均处于中度多态( $0.25 < PIC < 0.5$ );在引物 P3 位点,DD 基因型频率较 CD 基因型频率占优势,群体遗传多态性检测均处于中度多态( $0.25 < PIC < 0.5$ )。

### 2.5 *POU1F1* 基因和五指山猪生长性状的关系

利用 SPSS 软件分析五指山猪 *POU1F1* 基因引物 P3 扩增片段多态性与五指山猪 3 个生长阶段及其日增重的关联程度,结果发现引物 P3 不同基因型对的五指山猪 3 个阶段的生长及日增重间均无显著差异,但是 CD 基因型的五指山猪个体在 2~8 月龄的日增重高于 DD 基因型个体,而在 8~12 月龄时则低于 DD 型个体(表 4)。

## 3 讨论

五指山猪是我国小型猪种中体型最小、体重最轻的珍稀畜种,具有抗逆性强、遗传稳定、代谢率低等

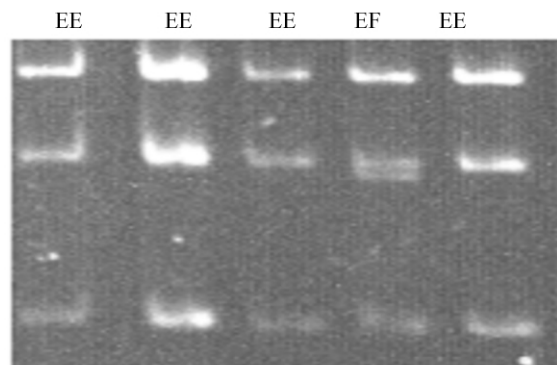


图 5 引物 P4 *PstI* 酶切结果  
Fig. 5 *PstI* patterns of primer P4

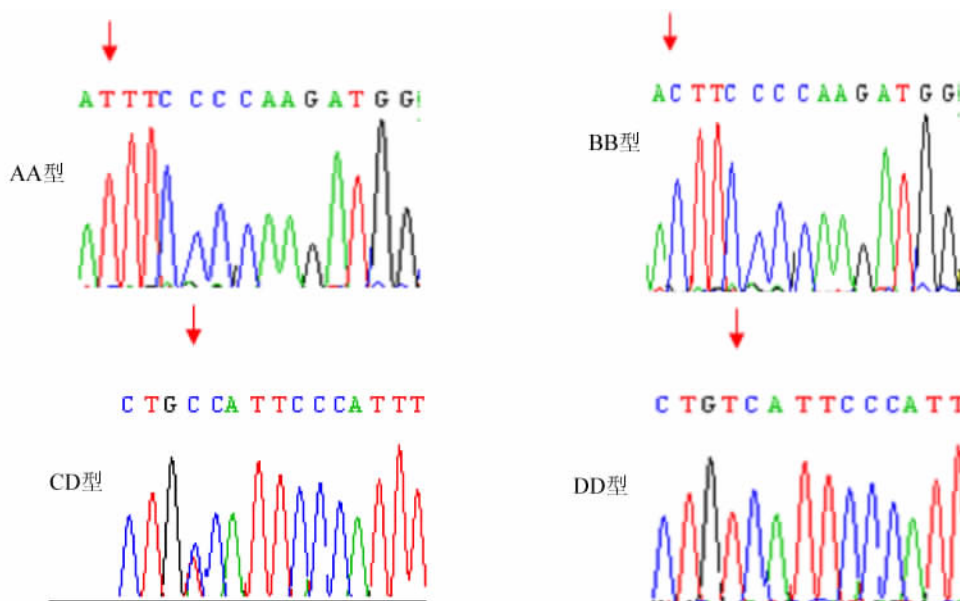


图 6 猪 *POU1F1* 基因 P2 和 P3 中不同基因型的序列比较

Fig. 6 Sequence comparison of different genotypes of primer P2 and P3 of *POU1F1* gene in pig

表 3 地方猪 *POU1F1* 基因的遗传结构分析

Tab. 3 Population genetic structure analysis of *POU1F1* gene

基因型 Genotype	品种 Breed	AA 型 AA genotype	BB 型 BB genotype	CD 型 CD genotype	DD 型 DD genotype
基因型频率 Genotype frequency	W	0.00	1.00	0.34	0.66
	WJ	0.00	1.00	0.27	0.73
	D	0.32	0.68	0.43	0.57
	X	0.28	0.72	0.37	0.63
	L	0.00	1.00	0.26	0.74
	T	0.00	1.00	0.18	0.82
多态信息含量 PIC	W	0.00	0.35		
	WJ		0.00	0.32	
	D		0.34	0.37	
	X		0.32	0.36	
	L		0.00	0.31	
	T		0.00	0.25	

表 4 五指山猪 *POU1F1* 不同基因型与五指山猪生长性状的相关分析

Tab. 4 Correlation analysis between different genotypes of *POU1F1* gene and growth traits

基因型 Genotype	2 月龄/kg 2 months	8 月龄/kg 8 months	12 月龄/kg 12 months	2 ~ 8 月龄日增重/g daily gain of 2 - 8 months	8 ~ 12 月龄日增重/g daily gain of 8 - 12 months
CD 型 CD genotype	5.81 ± 1.23 a	16.07 ± 2.04 a	21.95 ± 5.21 a	57.00 ± 0.34 a	49.00 ± 0.86 a
DD 型 DD genotype	5.95 ± 1.14 a	15.85 ± 2.51 a	22.10 ± 3.20 a	55.00 ± 0.50 a	52.08 ± 0.47 a

同一行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 ( $P < 0.01$ ) 。

Different lowercase letters mean significant difference at 0.05 level , different uppercase letters mean significant at 0.01 level.

诸多特性。1998 年海南省农业科学院畜牧兽医研究所组织课题组深入到交通不便或没有引入过其他品种的山区, 对海南五指山猪的分布、存在数量、生存环境、生产性能、饲养管理等进行了调查, 对存在的

猪群进行了严格的鉴定,将基本符合标准的猪收集到海口郊区集中饲养,并成立了五指山猪原种场,该原种场于 2009 年被国家确认为国家级保种场,经过近 10 多年的选育,已建立起符合要求的封闭群五指山猪繁育体系。五指山猪在海南山区属于放养,以粗饲料为主,所以个体相对较小,在本保种场,利用生番薯模拟代替五指山猪放养所采食的粗饲料,再加入精饲料混合喂养,加之饲养环境等的改善,使得现有猪生长速度较以前稍微快点,但是总体生长速度缓慢,特别是 8 个月以后生长速度逐渐减慢,成年的五指山猪也不超过 35 kg。

猪的生长性状是一个复杂的数量性状,受遗传、营养、养殖方式、上市时间以及环境等诸多因素的影响。近年来,国内外学者<sup>[9-17]</sup>围绕不同生长性状的候选基因做了大量的研究工作,发现了多个影响生长性状的候选基因。垂体特异性转录因子 1 (POU1F1) 是调控垂体 GH、PRL、TSH $\beta$  亚基转录的重要反式因子,与猪生长性状、胴体性能有显著关联,被视为与猪生长相关的候选基因之一。本文利用 PCR-SSCP、PCR-RFLP 技术检测 6 个猪种群 POU1F1 基因的多态性,发现引物 P2、P3 的 PCR 片断表现有多态性。在引物 P2 位点,海南 4 个品系的猪种(五指山猪、五指山猪近交系、临高猪、屯昌猪)均没有发现多态性,而在滇南小耳猪、香猪 2 个猪种中 BB 基因型频率较 AA 基因型频率占优势,群体遗传多态性检测均处于中度多态( $0.25 < PIC < 0.5$ );在引物 P3 位点,DD 基因型频率较 CD 基因型频率占优势,群体遗传多态性检测均处于中度多态( $0.25 < PIC < 0.5$ )。引物 P4 PCR 扩增的片段 RSAI 没有表现出多态性,而 PST1 也仅个别个体表现出多态,这与 T-P Yu 等<sup>[14-16]</sup>的研究结果相同,即中国的地方猪种在此位点不存在多态性。

由于五指山猪在引物 P2 位点没有发生突变,仅对五指山猪 POU1F1 基因 P3 位点多态性与 3 个生长阶段及其日增重的关联程度的进行了分析,结果发现不同基因型对五指山猪 2 月龄、8 月龄、12 月龄 3 个生长期的体重及 2~8 月龄、8~12 月龄的日增重均不存在显著相关,这与本作者之前研究的 POU1F1 基因其它位点(内含子 3、外显子 4)对五指山猪的生长没有影响的结果相同。但这和很多研究学者以猪为研究对象的一系列研究中认为 POU1F1 对生长性状存在相关的结论有所不同,这说明某一特定的突变位点对不同猪种同一性状的影响不完全一致,POU1F1 基因可能和其它基因间存在着紧密的连锁<sup>[12,18]</sup>,且受到其它相关因素的影响,因而在不同群体内有不同的表现<sup>[13]</sup>。POU1F1 基因能否作为猪育种辅助选择的分子标记,还应该通过加大猪品种,在 RNA 水平、蛋白质水平等方面再做进一步的研究。

#### 参考文献:

- [1]Taha D, Mullis P E, Ibañez L, et al. Absent or delayed adrenarche in pit - 1/POU1F1 [J]. Deficiency Horm Res 2005 64 (4): 175-179.
- [2]李宏滨 曹红鹤 郝友民. Pit - 1 基因在人、鼠及猪中的研究现状[J]. 遗传, 2001 23: 605-608.
- [3]Rodriguez R, Andersen B. Cellular determination in the anterior pituitary gland: PIT - 1 and PROP - 1 mutations as causes of human combined pituitary hormone deficiency [J]. Minerva Endocrinol 2003 28(2): 123-33.
- [4]Salemi S, Besson A, Eblé A, et al. New N - terminal located mutation( Q4ter) within the POU1F1 - gene( PIT - 1) causes recessive combined pituitary hormone deficiency and variable phenotype [J]. Growth Hormone and IGF Research, 2003 13 (5): 264-268.
- [5]Hendriks - Stegeman B I, Augustijn K D, Bakker B, et al. Combined pituitary hormone deficiency caused by compound heterozygosity for two novel mutations in the POU domain of the Pit1/POU1F1 gene [J]. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 2001 86(4): 1545-1550.
- [6]Ohta K, Nobukuni Y, Mitsubuchi H, et al. Characterization of the gene encoding human pituitary - specific transcription factor, Pit - 1 [J]. Gene, 1992 122(2): 387-388.
- [7]Brunsch C, Sternstein I, Reinecke P, et al. Analysis of associations of PIT1 genotypes with growth, meat quality and carcass composition traits in pigs [J]. Journal of Applied Genetics 2002 43(1): 85-91.
- [8]Franco M M, Antunes R C, Silva H D, et al. Association of PIT1, GH and GHRH polymorphisms with performance and carcass traits in Landrace pigs [J]. Journal of Applied Genetics, 2005 46(2): 195-200.
- [9]Kuryl J, Pierzchala M. Association of POU1F1/RsaI genotypes with carcass traits in pigs [J]. Journal of Applied Genetics, 2001 42(3): 309-316.

(下转第 808 页)

能力,表明侧柏叶乙醇提取物具有抗氧化活性。

侧柏叶的主要化学成分是挥发油、黄酮类、鞣质等<sup>[2-3,5]</sup>,其抗氧化性与这些活性成分有关。植物中的挥发油、黄酮类化合物与鞣质都具有抗氧化活性,挥发油含有不饱和键,具有抑制自由基的形成;黄酮类化合物的种类较多,羟基数目及位置与抗氧化活性有很大关系,羟基作为氢供体,对多种活性氧具有消除作用,从而打断自由基链反应<sup>[9]</sup>。鞣质是一类结构复杂的多元酚类化合物,其抗氧化活性目前国内外研究较多<sup>[10]</sup>。这些侧柏叶不同浓度的乙醇提取物抗氧化能力不同,与样品中含有抗氧化活性成分的种类和含量有关,具体有待于进一步进行深入的系统研究。

自由基最大的特点是进行链反应,反应一旦起始,生成稳定的非自由基产物的终止步骤很少发生。但是只要有少量的能捕捉和清除自由基的抗氧化剂就可以使链反应减慢或终止<sup>[11]</sup>。自由基与多种疾病的发生都有关系,侧柏是一种中药材,具有抗炎、抗肿瘤、抗红细胞氧化等功能<sup>[12]</sup>,其抗氧化活性可能与其药理作用机制有关。

#### 参考文献:

- [1]王镜岩,朱圣庚,徐长法.生物化学[M].北京:高等教育出版社,2002:96-103.
- [2]陈兴芬,单承莺,马世宏,等.侧柏叶化学成分、生理活性及防脱发功能研究进展[J].中国野生植物资源,2010,29(3):1-5.
- [3]赵永光,常立新,周永国,等.超声波法提取侧柏叶片中黄酮类化合物的研究[J].河北农业大学学报,2005,28(2):54-56.
- [4]孙立靖,任建成.中药侧柏叶饮片中无机元素的含量测定[J].山东师大学报:自然科学版,1999,14(4):400-402.
- [5]刘廷礼,邱琴,赵怡,等.侧柏叶挥发油成分的GC-MS分析[J].中药材,2000,23(8):460-461.
- [6]罗宗铭,方岩雄,张焜,等.黄酮及维生素C的抗羟基自由基的比较研究[J].中国油脂,2003,28(3):58-60.
- [7]吴亚楠,鲁晓翔,连喜军,等.玉米须黄酮清除自由基活性的研究[J].食品研究与开发,2009,30(1):5-8.
- [8]黄海兰,王国明,李增新,等.鸭跖草抗氧化成分提取及其活性研究[J].食品科学,2008,29(9):55-58.
- [9]郑瑞生,封辉,戴聪杰,等.植物中抗氧化活性成分研究[J].中国农学通报,2010,26(9):85-90.
- [10]邵芳芳,尹卫平,梁菊.重要的植物多酚及其抗氧化性能的研究概况[J].西北药学杂志,2010,25(1):66-68.

#### (上接第 780 页)

- [10]Song C, Gao B, Teng Y, et al. *MspI* polymorphisms in the 3rd intron of the swine *POU1F1* gene and their associations with growth performance[J]. Journal of Applied Genetics, 2005, 46(3): 285-289.
- [11]滕勇,宋成义,经荣斌.猪 *POU1F1* 基因第 3 内含子 *Msp I* 酶切片多态特征及其与生长性能相关性的研究[J].畜牧兽医学报,2005,36(2):205-208.
- [12]方华,郑友民,李宏滨,等.猪 *POU1F1* 第一内含子单核苷酸多态性和生长性状相关性研究[J].中国农业科学,2009,42(1):283-289.
- [13]方华.猪 *POU1F1* 基因多态性和 mRNA 表达相关性的研究[D].北京:中国农业科学院,2004.
- [14]庞瑾,李宏滨,郑友民,等.猪 *Pit-1* 基因的多态性研究[J].畜牧兽医学报,2005,36(6):531-535.
- [15]Yu T P, Schmitz C B, Rothschild M F, et al. Expression pattern, genomic cloning and RFLP analyses of the swine *Pit-1* gene[J]. Animal Genetics, 1994, 25: 229-233.
- [16]Yu T P, Tuggle C K, Schmitz C B, et al. Association of *Pit-1* polymorphisms with growth and carcass traits in pigs[J]. J Anim Sci, 1995, 76(5): 1282-1288.
- [17]滕勇,经荣斌,宋成义.猪 *POU1F1* 基因第 3 内含子 *MspI* 酶切片多态性特征的研究[J].华中农业大学学报,2004,24(2):8-11.
- [18]王秩,邓洁英,史轶蓁.促生长素释放激素及细胞因子对垂体促生长素基因表达的调控及其与 *Pit-1* 的关系[J].中华内分泌代谢杂志,2000,16:297-301.