

Đánh giá tính đa hình các kiểu gen cGH và cGHR trên giống gà Móng Tiên Phong

Nguyễn Trọng Tuyên^{1*}, Phùng Đức Tiến², Ngô Thị Kim Cúc³, Lưu Quang Minh³

¹Trường Trung học phổ thông B Phú Lý (Hà Nam)

²Ủy ban Khoa học, Công nghệ và Môi trường của Quốc hội

³Viện Chăn nuôi

Ngày nhận bài 3/10/2016, ngày chuyển phản biện 7/10/2016, ngày nhận phản biện 31/10/2016, ngày chấp nhận đăng 7/11/2016

Gen cGH và cGHR đóng vai trò quan trọng đối với các tính trạng sản xuất của gà. Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định tính đa hình đơn nucleotide (SNPs) tại vị trí đa hình G1705A (gen cGH-int3), G3037T (gen cGH-int4) và vị trí 561 trong sản phẩm khuếch đại PCR (gen cGHR-int2) trên quần thể giống gà Móng Tiên Phong bằng kỹ thuật PCR-RFLP kết hợp với giải trình tự gen. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tính đa hình tại locus cGH-int4 là cao nhất với tần số kiểu gen GG, TG và TT lần lượt là 0,361, 0,213 và 0,426; tương ứng với tần số alen cGH-int4/Bsh1236I/G là 0,468 và cGH-int4/Bsh1236I/T là 0,532. Đa hình tại locus cGH-int3 được tìm thấy trong quần thể là thấp hơn với tần số alen cGH-int3/EcoRV/G (0,92) và cGH-int3/EcoRV/A (0,08), trong khi đó, tại locus cGHR-int2 đã không phát hiện tính đa hình trên gen (100% cá thể gà nghiên cứu đều mang kiểu gen cGHR-int2/HindIII+/+). Các kết quả này là cơ sở để tiếp tục nghiên cứu về mối quan hệ giữa tính đa hình di truyền các gen cGH, cGHR với những tính trạng sinh trưởng và sinh sản của gà Móng Tiên Phong nhằm lựa chọn được những quần thể gà có năng suất cao.

Từ khóa: đa hình gen, gà Móng Tiên Phong, gen cGH, gen cGHR và hormone sinh trưởng ở gà.

Chỉ số phân loại 4.2

Đặt vấn đề

Ở gà, gen cGH nằm ở phần cuối trên cánh dài của nhiễm sắc thể số 1, gồm 5 exon và 4 intron với chiều dài toàn bộ là 4,1 kb [1, 2]. Các sản phẩm của gen quy định các hormone tăng trưởng gà (cGH) bao gồm một phân tử protein hoàn chỉnh với 191 axit amin và một chuỗi polypeptit tín hiệu với 25 axit amin [1, 3]. Gen cGHR có kích thước trên 71 kb nằm ở nhiễm sắc thể giới tính Z, chứa 9 exon và 8 intron [4]. Sản phẩm do 2 gen này mã hóa đã được coi là các nhân tố cơ bản thuộc trực kích thích sinh dưỡng điều khiển sự sinh trưởng và phát triển ở gà.

Đa hình đơn nucleotide - SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) trên gen cGH đã được chứng minh có liên kết chặt chẽ với các đặc tính thân thịt, tốc độ tăng trưởng và chất lượng thịt xẻ [3, 5, 6], khối lượng cơ thể và tăng trưởng xương, tỷ lệ thịt đùi, sản lượng trứng [7], khả năng kháng bệnh, lượng chất béo ở bụng, hàm lượng chất béo thô của các cơ ngực, tỷ lệ ấp nở của gà [8]... Bên cạnh đó, các nghiên cứu đa hình SNPs trong gen cGHR cũng đã chứng minh có liên quan đến tốc độ tăng trưởng và tích tụ mỡ của các giống gà hướng thịt

nhẹ hơn các giống hướng trứng [5, 9].

Tại Việt Nam, trong một vài năm gần đây, đa hình các gen cGH và cGHR bước đầu được nghiên cứu trên các giống gà Tàu Vàng, Nòi, Mía, Chọi lai và Ri [10-12]. Các tác giả cũng đề xuất cần tiếp tục đánh giá tính đa hình các kiểu gen và tần số các alen của các gen này trên các giống gà nội khác để lựa chọn những tổ hợp vị trí đa hình có tiềm năng liên kết với các tính trạng sản xuất mong muốn ở gà.

Gà Móng Tiên Phong là giống gà địa phương nguyên chủng, hướng thịt với nhiều ưu điểm như: chân to, thịt chắc, thơm, da giòn, trứng thơm ngon... Tuy nhiên đến nay chưa có công bố nào trên đối tượng gà này về tính đa hình các gen cGH và cGHR cũng như mối tương quan với các tính trạng sản xuất của gà. Vì vậy, kết quả xác định tính đa hình các gen cGH và cGHR cũng như xác định tần số kiểu gen và tần số alen trong nghiên cứu của chúng tôi góp phần tạo tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về mối tương quan giữa đa hình các gen cGH và cGHR đối với các tính trạng năng suất sinh trưởng và sinh sản của gà Móng Tiên Phong nhằm lựa chọn được những quần thể gà có năng suất cao.

*Tác giả liên hệ: Tel: 0913918682; Email: tuyenplb@gmail.com

The evaluation on the polymorphism of cGH and cGHR genes in the Mong Tien Phong chickens

Summary

The chicken growth hormone (cGH) gene and the chicken growth hormone receptor (cGHR) gene play a crucial role in production the traits of chicken. The objective of the research is to identify the single nucleotide polymorphisms (SNPs) at the positions: G1705A in cGH-int3, G3037T in cGH-int4, and 561 in cGHR-int2 (amplified-PCR product) in Mong Tien Phong chicken populations by the PCR-RFLP technique and gene sequencing. The research results indicated that the polymorphism at the locus cGH-int4 was highest, and the genotype frequencies of GG, TG, and TT were observed as 0.361, 0.213, and 0.426, respectively. Consequently, cGH-int4/Bsh1236I/G and T allele frequencies were 0.468 and 0.532, respectively. The polymorphism at the locus cGH-int3 was found lower with the cGH-int3/EcoRV/G allele frequency of 0.92 and the cGH-int3/EcoRV/A allele frequency of 0.08. Whereas, no polymorphism was detected in the locus cGHR-int2 since all tested chickens carried cGHR-int2/HindIII+/+ genotype.

Keywords: cGH gene, cGHR gene and chicken growth hormone, genetic polymorphisms, Mong Tien Phong chicken.

Classification number 4.2

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

144 mẫu máu lấy từ tĩnh mạch cánh của 144 cá thể gà Móng Tiên Phong 20 tuần tuổi. Trong đó, số mẫu ADN sử dụng để phân tích điểm đa hình G1705A trên đoạn gen cGH-int3 là 144 mẫu; điểm đa hình G3037T trên đoạn gen cGH-int4 là 94 mẫu và số mẫu ADN phân tích điểm đa hình tại vị trí 561 trong sản phẩm PCR nhân đoạn gen cGHR-int2 là 100 mẫu.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tách chiết ADN từ máu gà: ADN tổng số từ máu gà được tách chiết bằng bộ kit (GeneJET

Genomic ADN Purification, Thermo Scientific) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Phản ứng PCR nhân các đoạn gen quan tâm:

- Sử dụng cặp mồi: cGH-int3-F (5'- TCC CAG GCT GCG TTT TGT TAC TC - 3') và cGH-int3-R (5'- ACG GGG GTG AGC CAG GAC TG - 3') được thiết kế để nhân đoạn gen cGH có kích thước 429 bp từ pos.2116 đến pos.2544 trên nhiễm sắc thể số 1 ở gà (GenBank: AY461843).

- Sử dụng cặp mồi: cGH-int4-F (5'- CCC AAC AGT GCC ACG ATT CCA TG - 3') và cGH-int4-R (5'- TGC GCA GGT GGA TGT CGA ACT TG - 3') được thiết kế để nhân đoạn gen cGH có kích thước 483 bp từ pos.3312 đến pos.3794 trên nhiễm sắc thể số 1 ở gà (GenBank: AY461843).

- Sử dụng cặp mồi: cGHR-int2-F (5'- GGC TCT CCA TGG GTA TTA GGA - 3') và cGHR-int2-R (5'- GCT GGT GAA CCA ATC TCG GTT - 3') được thiết kế để nhân đoạn gen cGHR có kích thước 718 bp trên nhiễm sắc thể giới tính Z ở gà [9]. Thành phần các phản ứng với tổng thể tích 25,0 µl bao gồm: H₂O 14,2 µl, Buffer (10X) 2,5 µl, MgCl₂ (25 mM) 1,5 µl, dNTPs (2 mM) 2,5 µl, mồi xuôi (10 pmol/µl) 1,0 µl, mồi ngược (10 pmol/µl) 1,0 µl, hot start Taq DNA Polymerase (5 U/µl) 0,3 µl, ADN khuôn 2,0 µl.

Phản ứng PCR được trộn kỹ bằng pipet trước khi đưa vào máy nhân gen Thermal - Cycler, sử dụng chu trình nhiệt với các giai đoạn như sau:

	Giai đoạn khởi đầu	Giai đoạn chính			Giai đoạn hoàn thành
		Biến tính	Gắn mồi	Kéo dài	
Nhiệt độ	95°C	94°C	59 hoặc 62°C*	72°C	72°C
Thời gian	10 phút	30 giây	40 giây	30 giây	5 phút
Số chu kỳ	1	35			1

* Đoạn gen cGH-int3 và cGH-int4: nhiệt độ gắn mồi 62°C

*Đoạn gen cGHR-int2: nhiệt độ gắn mồi 59°C

Phản ứng RFLP xác định đa hình các đoạn gen quan tâm: phản ứng được thực hiện với sự tham gia của các enzyme cắt giới hạn EcoRV có trình tự nhận biết và cắt GAT/ATC, Bsh1236I (CG/CG), HindIII (A/AGCTT) nhằm phát hiện đa hình các đoạn gen tương ứng cGH-int3, cGH-int4 và cGHR-int2 được nhân lên thành công.

Thành phần phản ứng với tổng thể tích 20 µl, bao gồm: H₂O 5,0 µl, Buffer phù hợp (10X) 2,0 µl, Enzyme giới hạn phù hợp (10 U/µl) 1,0 µl, sản phẩm PCR 12,0 µl.

Phản ứng được trộn kỹ bằng pipet, sau đó ủ cắt ở 37°C trong thời gian tối thiểu 4 giờ (có thể ủ qua đêm) trước khi kiểm tra trên gel agarose 1,5 hoặc 2,0% tùy theo kích thước sản phẩm cắt. Kết quả được phân tích dưới ánh sáng UV ở bước sóng 256 nm, sử dụng máy chụp ảnh GelDoc và phần mềm Dolphi - DOC.

Phương pháp giải trình tự gen: quá trình giải trình tự được tiến hành tuần tự theo 4 bước bao gồm: (a) Phản ứng sequencing được thực hiện theo quy trình bộ Kit BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing, (b) Làm sạch sau sequencing sử dụng bộ Kit BigDye® XTerminator™ Purification, (c) Tiến hành giải trình tự trên máy AB3130 của hãng AB được thực hiện theo module BigDye® XTerminator™ Sequencing (website hỗ trợ www.appliedbiosystems.com/support), sử dụng POP7 và Capillary loại 3130 và 3100 (Avent Capillary Array - 36cm) và (d) Phân tích dữ liệu giải trình tự sử dụng phần mềm chuyên dụng Bioedit v7.2.5 tại Phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ tế bào động vật, Viện Chăn nuôi.

Phương pháp xác định tần số kiểu gen và tần số alen các đoạn gen cGH và cGHR nghiên cứu:

+ Tần số kiểu gen được tính theo công thức:

$$\text{Tần số kiểu gen} = \frac{\text{Số cá thể mang kiểu gen tương ứng}}{\text{Tổng số cá thể trong quần thể}}$$

+ Tần số alen A ký hiệu là f(A) được tính theo công thức:

$$f(A) = f(AA) + 1/2 f(AB) + 1/2 f(AC) + \dots + 1/2 f(AN)$$

Trong đó: f(AA) là tần số xuất hiện kiểu gen đồng hợp tử alen A trong quần thể; f(AB)... f(AN) là tần số xuất hiện các kiểu gen dị hợp của alen A với các alen khác.

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft excel.

Kết quả và thảo luận

Xác định đa hình kiểu gen cGH và cGHR sử dụng kỹ thuật PCR-RFLP

Các phản ứng PCR được tối ưu hóa và các đoạn gen quan tâm được nhân lên thành công, đảm bảo cho việc xác định đa hình các đoạn gen cGH-int3, cGH-int4 và cGHR-int2 bằng phản ứng RFLP, sử dụng lần lượt các enzyme cắt giới hạn EcoRV, Bsh1236I và HindIII. Kết quả cụ thể như sau:

Đối với đoạn gen cGH-int3, sản phẩm PCR (429 bp) được cắt bằng enzyme giới hạn EcoRV (GAT/ATC) nhằm phát hiện đa hình G1705A thuộc intron

3 [3]. Kết quả được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5%. Hình ảnh trên điện di đồ cho thấy 3 kiểu gen GG, GA và AA đều xuất hiện trong quần thể gà nghiên cứu (hình 1).



Hình 1: đa hình đoạn intron 3 của gen cGH được cắt bởi enzyme giới hạn EcoRV

Đối với đoạn gen cGH-int4, sản phẩm PCR (483 bp) sau đó được cắt bằng enzyme giới hạn Bsh1236I nhằm phát hiện đa hình G3037T thuộc intron 4 [3]. Kết quả được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5%. Hình ảnh trên điện di đồ cho thấy 3 kiểu gen TT, TG và GG đều có mặt trong quần thể (hình 2).



Hình 2: đa hình đoạn intron 4 của gen cGH được cắt bởi enzyme giới hạn Bsh1236I

Đối với đoạn gen cGHR-int2, sản phẩm PCR (718 bp) được cắt bởi enzyme HindIII nhằm phát hiện đa hình tại vị trí 561-PCR, kết hợp với 1 điểm cắt tại vị trí 314 trong sản phẩm PCR, tạo thành 2 alen và 3 kiểu gen. Kết quả trên điện di đồ (2% agarose) cho thấy tất cả các mẫu đều chứa vị trí cắt 561 intron 2 của đoạn gen cGHR, dẫn đến 100% cá thể gà Móng Tiên Phong nghiên cứu đều mang kiểu gen đồng hợp HindIII+/+ (hình ảnh không trình bày).

Tần số kiểu gen, tần số alen của các đa hình kiểu gen cGH và cGHR

Vị trí cGH-intr4/Bsh1236I có tính đa hình cao nhất với tần số kiểu gen GG là 0,361; TG là 0,213 và TT là 0,426; tần số alen G là 0,468 và alen T là 0,532. Tính đa hình tại điểm cGH-int3/EcoRV thấp hơn, cụ thể tần số kiểu gen GG là 0,847 cao hơn tần số kiểu gen GA (0,139), tần số kiểu gen AA (0,014) rất thấp trong quần thể. Tại điểm đa hình này, các tần số alen có sự chênh lệch rất cao, tần số các alen trội G và alen lặn A tương ứng là 0,92 và 0,08; đặc biệt trong tổng số 144 mẫu ADN, chỉ có 2 mẫu mang kiểu gen AA. Trong khi đó tại vị trí cGHR-int2/HindIII không phát hiện tính đa hình trên intron 2 gen cGHR, 100% cá thể gà phân tích đều có kiểu gen HindIII+/+.

Bảng 1: tần số kiểu gen và tần số alen gen cGH và cGHR trên quần thể gà Móng Tiên Phong

Locus	Tần số kiểu gen			Tần số alen	
	AA	GA	GG	A	G
cGH-int3/EcoRV	0,014	0,139	0,847	0,08	0,92
cGH-int4/Bsh1236I	0,426	0,213	0,361	0,532	0,468
cGHR-int2/HindIII	-/-	+/-	+/+	-	+
	0	0	1	0	1

Kết quả nghiên cứu của Nie và cs (2005) [3] về tính đa hình gen cGH-int3/EcoRV và cGH-int4/Bsh1236I cũng khẳng định, tính đa hình tại điểm G1705A trên cGH-int3 thấp hơn tính đa hình tại điểm G3037T trên cGH-int4. Tại điểm đa hình G1705A với tần số kiểu gen đồng hợp trội (GG) là 0,772, các kiểu gen (AA và GA) chiếm 0,228; tần số alen A là 0,134, tần số alen G là 0,866. Sự chênh lệch lớn về tần số alen tại điểm đa hình này phù hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi.

Tại 2 vị trí đa hình này, trên giống gà Mía, gà Chọi lai và gà Ri, nhóm tác giả Lưu Quang Minh và cs (2016) [12] cũng chỉ ra tần số alen G tại điểm đa hình G1705A trên cGH-int3 ở gà Mía (0,955), gà Chọi lai (0,93) và gà Ri (0,927), tương tự như tần số alen G của gà Móng Tiên Phong (0,92) trong nghiên cứu của chúng tôi. Tại điểm đa hình G3037T trên cGH-int4 tần số alen T và alen G tương ứng ở gà Mía (0,31 và 0,69), gà Chọi lai (0,495 và 0,505) và gà Ri (0,293 và 0,707), trong khi kết quả nghiên cứu của chúng tôi trên đối tượng gà Móng Tiên Phong, tần số alen T (0,532) cao hơn tần số alen G (0,468).

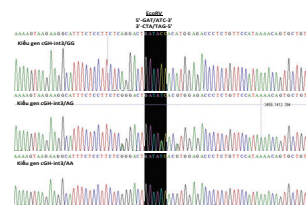
Tại vị trí cGHR-int2/HindIII trên giống gà bản địa Trung Quốc, Li và cs (2008) [13] đã chỉ ra rằng tần số alen "+" là 0,9935 và tần số alen "-" là 0,0065. Kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu của B. Enayati và cs (2011) [14] trên giống gà Mazandaran, tần số alen "+" là 0,99 và tần số alen "-" là 0,01. Điều đặc biệt trong các kết quả công bố trên là không có kiểu gen dị hợp nào được xác định. Trên giống gà Tàu Vàng, đa hình cGHR-int5 và sử dụng enzyme giới hạn Eco72I, nhóm tác giả Đỗ Võ Anh Khoa (2014) [11] đã công bố tần số alen A là 0,92, tần số alen G là 0,08; trong khi đó ở quần thể gà Nòi, tác giả nhận thấy có 100% tần số alen A trong quần thể. So sánh với kết quả của các tác giả trên, chúng tôi nhận thấy, tần số kiểu gen HindIII+/+ và tần số alen HindIII+ chiếm một tỷ lệ rất cao trong các quần thể gà bản địa. Nói cách khác, có rất ít alen HindIII- tồn tại trong các quần thể gà bản địa trên thế

giới và Việt Nam. Đối với gà Móng Tiên Phong trong thí nghiệm của chúng tôi không xác định được tần số alen HindIII- trong quần thể.

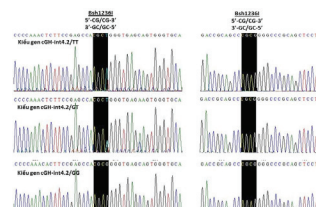
Như vậy, trên đối tượng gà Móng Tiên Phong đa hình tại 3 vị trí trên là khác nhau. Tính đa hình cao nhất ở vị trí G3037T trên đoạn gen cGH-int4, vị trí G1705A trên đoạn gen cGH-int3 có tính đa hình thấp hơn. Đặc biệt, chúng tôi không phát hiện tính đa hình ở vị trí 561 PCR nhân đoạn gen cGHR-int2. Vì vậy, việc nghiên cứu sàng lọc đánh giá đa hình kiểu gen liên kết với các tính trạng sản xuất cụ thể của gà là cần thiết trước khi đi sâu vào nghiên cứu ảnh hưởng của chúng đến các tính trạng quan tâm.

Kết quả giải trình tự gen cGH

Để khẳng định kết quả xác định đa hình kiểu gen bằng cách sử dụng kỹ thuật PCR-RFLP bởi các enzyme tương ứng như trên là chính xác và hơn nữa để đánh giá mức độ tương đồng về trình tự các đoạn gen này trong quần thể gà nghiên cứu, chúng tôi tiến hành giải trình tự các đoạn gen cGH-int3 và cGH-int4. Do trên đoạn gen cGHR-int2 không xác định được tính đa hình tại điểm nghiên cứu, nên chúng tôi không tiến hành giải trình tự đoạn gen này. Kết quả giải trình tự các đoạn gen cGH-int3 và cGH-int4 được thể hiện tương ứng trong hình 3 và 4.



Hình 3: sản phẩm giải trình tự 3 kiểu gen cGH-int3



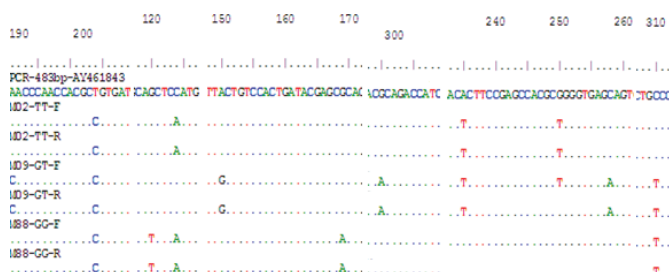
Hình 4: sản phẩm giải trình tự 3 kiểu gen cGH-int4

Kết quả giải trình tự các vùng cGH-int3 và cGH-int4 cho thấy, các vùng này được khuếch đại hoàn toàn đặc hiệu, các điểm đa hình được xác định tại vị trí G1705A thuộc intron 3 gen cGH [3] là hoàn toàn chính xác và phù hợp với các điểm cắt bởi enzyme giới hạn EcoRV; điểm đa hình tại vị trí G3037T thuộc intron 4 của gen cGH [3] cũng hoàn toàn chính xác và phù hợp với điểm cắt bởi enzyme giới hạn Bsh1236I.

Nhằm đánh giá mức độ tương đồng về trình tự các đoạn gen này trên quần thể gà Móng Tiên Phong nghiên cứu, chúng tôi tiến hành so sánh trình tự cGH-int3 và cGH-int4 của gà Móng Tiên Phong với các trình tự tương ứng lấy từ Ngân hàng gen thế giới (AY461843). Kết quả được thể hiện trong hình 5 và hình 6.



Hình 5: kết quả so sánh trình tự 3 kiểu gen cGH-int3 với trình tự đoạn gen cGH lấy từ Ngân hàng gen thế giới (AY461843)



Hình 6: kết quả so sánh trình tự 3 kiểu gen cGH-int4 với trình tự đoạn gen cGH lấy từ Ngân hàng gen thế giới (AY461843)

Phân tích kết quả so sánh này, chúng tôi nhận thấy: (1) Mức độ tương đồng nucleotide khá cao trong trình tự các đoạn gen cGH-int3 và 4 ở gà Móng Tiên Phong; (2) Bên cạnh điểm đa hình đã được biết đến, chúng tôi còn phát hiện một số điểm đa hình khác ở cGH-int3 và cGH-int4 khi so sánh với trình tự gen đã công bố trên Ngân hàng gen thế giới (AY461843). Cụ thể, trên đoạn gen cGH-int3, các đột biến điểm A239G, G247A và G251A xảy ra ở cả 3 kiểu gen GG, AG và AA. Ngoài ra, ở kiểu gen GG xuất hiện 2 đột biến điểm C129T và A189T, trong khi các kiểu gen AA và AG xuất hiện đột biến điểm ở 2 vị trí khác là G133A và T143C. Tương tự, đối với đoạn gen cGH-int 4, đều phát hiện đột biến thay thế T204C trên cả ở 3 kiểu gen TT, TG và GG; (3) Trong 2 vùng gen cGH-int3 và cGH-int4, đa số các đột biến điểm đều là sự thay thế nucleotide trong cùng nhóm (purine - giữa A và G hoặc pyrimidine - giữa T và C). Ngoài ra, xuất hiện một đột biến thay thế khác nhóm từ purine (A) sang pyrimidine (T) ở kiểu gen TT và TG trên đoạn gen cGH-int4 tại vị trí A235T và ở kiểu gen GG trên đoạn gen cGH-int3 tại vị trí A164T.

Kết luận

Locus cGH-int3 (sử dụng enzyme EcoRV) xuất hiện cả 3 kiểu gen (GG, GA và AA) trong quần thể gà Móng Tiên Phong, tuy nhiên tính đa hình thấp với tần số alen G là 0,92, tần số alen A là 0,08.

Locus cGH-int4 (sử dụng enzyme Bsh1236I) xuất hiện cả 3 kiểu gen (TT, TG và GG) trong quần thể với tính đa hình cao. Tần số các kiểu gen tương ứng lần lượt là 0,361; 0,213 và 0,426. Tần số alen G và T tương ứng được tính toán là 0,468 và 0,532.

Locus cGHR-int2 (sử dụng enzyme HindIII) đã không phát hiện tính đa hình trên đoạn gen này với 100% cá thể gà nghiên cứu mang kiểu gen HindIII+/+.

Tài liệu tham khảo

- [1] M. Tanaka, Y. Hosokawa, M. Watahiki, K. Nakashima (1999), "Structure of the chicken growth hormone-encoding gene and its promoter region", *Gene*, (112), pp.235-239.
- [2] Xiaopeng Feng (1996), "Chicken growth hormone receptor and growth hormone: search for genetic variants which affect commercially important traits", *Thesis of Doctor of Philosophy*, Department of Animal Science, Macdonald Campus of McGill University, Quebec.
- [3] Q. Nie, B. Sun, D. Zhang, C. Luo, N.A. Ishag, M. Lei, G. Yang, X. Zhang (2005), "High Diversity of the Chicken Growth Hormone Gene and Effects on Growth and Carcass Traits", *Oxford Journals*, 96(6), pp.698-703.
- [4] Lau Suk Ling, Joanna (2005), "Molecular characterization of the chicken growth hormone receptor gene", *The degree of Doctor of Philosophy* The University of Hong Kong, pp.2-17.
- [5] M. Lei, C. Luo, X. Peng, M. Fang, Q. Nie, D. Zhang, G. Yang, X. Zhang (2007), "Polymorphism of Growth- Correlated Genes Associated with Fatness and Muscle Fiber Traits in Chickens", *Poult Sci.*, (86), pp.835-842.
- [6] Muhammad Amrullah Pagala, Andi Murlina Tasse, Niken Ulupi (2015), "Association of cGH EcoRV Gene with Production in Tolaki Chicken", *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR)*, 24(7), pp.88-95.
- [7] Samaneh Gorji Makhsoos, Seyed Ziaeddin Mirhoseini, Mohammad Javadzami, Ali Niazi (2013), "Polymorphisms of Growth hormone gene in a native chicken population: Association with egg production", *Bull Vet Inst Pulawy*, (57), pp.73-77.
- [8] U. Kuhnlein, L. Ni, S. Weigend, J.S. Gavora, W. Fairfull, D. Zadworny (1997), "DNA Polymorphisms in the Chicken Growth Hormone Gene: Response to Selection for Disease Resistance and Association with Egg Production", *Anim Genet.*, 28, pp.116-123.
- [9] Mehdi Seyyedbabayi, Hamidreza Seyedabadi, Abolfazl Gorbani, Nosratalah Zarghami (2014), "Growth Hormone Receptor gene polymorphisms and its associations with some growth traits in West - Azarbaijan native chicken", *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.*, 3, pp.140-143.
- [10] Do Vo Anh Khoa, Nguyen Thi Kim Khang, Nguyen Trong Ngu, Joseph Matey, Huynh Thi Phuong Loan, Nguyen Thi Dieu Thuy (2013), "Single Nucleotide Polymorphisms in Gh, Ghr, Ghnr and Insulin Candidate Genes in Chicken Breeds of Vietnam", *Greener journal of Agricultural sciences*, 3(10), pp.716-724.
- [11] Đỗ Võ Anh Khoa (2014), "Đa hình di truyền C3199T của gen hoocmon tăng trưởng liên kết với các tính trạng năng suất thịt gà Tàu Vàng", *Tạp chí Khoa học công nghệ chăn nuôi*, 51, tr.57-64.
- [12] Lưu Quang Minh, Phạm Thị Phương Mai, Giang Thị Thanh Nhân, Trần Xuân Toàn (2016), "Tính đa hình SNPs trong 2 gen GH và GHR trên một số giống gà nuôi tại Việt Nam", *Tạp chí Khoa học công nghệ chăn nuôi*, 63, tr.14-19.
- [13] H. Li, W. Zhu, K. Chen, X. Wu, Q. Tang, Y. Gao (2008), "Associations between GHR and IGF-1 Gene Polymorphisms, and Reproductive Traits in Wenchang Chickens", *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 32, pp.281-285.
- [14] B. Enayati, G. Rahimi-Mianji (2011), "Genomic growth hormone, growth hormone receptor and transforming growth factor b-3 gene polymorphism in breeder hens of Mazandaran native fowls", *Afr. J. Biotechnol.*, 8(14), pp.3154-3159.