

بررسی چند شکلی نواحی ایترنون ۱ و ۴ ژن هورمون رشد در

مرغ‌های بومی اصفهان و مازندران

اعظم جعفری^۱، عباس پاکدل^{*۲}، سعید اسمائیل خانیان^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران - کرج

۲- عضو هیات علمی گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران - کرج

۳- عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی - اصفهان

*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: abpakdel@ut.ac.ir

() () - تاریخ پذیرش: (تاریخ دریافت:

چکیده

هورمون رشد طیور، یک هورمون پلی پپتیدی است که در بسیاری از فعالیت‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی نقش دارد. برای بررسی چند شکلی ژن هورمون رشد در جایگاه ایترنون ۱ از ۲۱۷ نمونه (۱۲۹ نمونه از اصفهان و ۸۸ نمونه از مازندران) و در جایگاه ایترنون ۴ از ۱۳۴ نمونه (۹۱ نمونه از اصفهان و ۴۳ نمونه از مازندران) استفاده گردید. استخراج DNA به روش نمکی بهینه یافته انجام شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به روش اسپکتروفوتومتری و ژل آگارز ۰/۸ درصد کنترل شد. با استفاده از دو جفت پرایمر اختصاصی و واکنش زنجیره‌ای پلی مراز قطعه ۷۷۶ جفت بازی در ناحیه ایترنون ۱ و قطعه ۱۱۷۰ جفت بازی در ناحیه ایترنون ۴ ژن هورمون رشد تکثیر گردید. قطعات تکثیر شده بوسیله آنزیم برشی MspI هضم و محصول هضم بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد الکتروفوروز شد. فراوانی آللی در ناحیه ایترنون ۱ برای آلل‌های M و O در جمعیت اصفهان به ترتیب ۰/۶۰، ۰/۲۱ و ۰/۱۹ و در جمعیت مازندران به ترتیب ۰/۲۸، ۰/۰۵ و ۰/۰۵ تعیین شد. فراوانی آللی در ناحیه ایترنون ۴ نیز برای آلل‌های A و B و C در جمعیت اصفهان به ترتیب ۰/۲۸، ۰/۳۱ و ۰/۰۴ و در جمعیت مازندران به ترتیب ۰/۳۷، ۰/۰۲۴ و ۰/۰۳۷ مشاهده شد. علاوه بر آلل‌های مذکور، آلل‌های D و E هر یک با فراوانی ۰/۰۱ فقط در جمعیت مازندران شناسایی شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که نواحی ایترنون ۱ و ۴ ژن هورمون رشد در مرغ‌های بومی اصفهان و مازندران از چند شکلی نسبتاً بالایی برخوردار هستند.

واژه‌های کلیدی

هورمون رشد،
چند شکلی،
مرغ بومی،
PCR-RFLP

مقدمه

دیگری که با ژن GH مرتبط است، با این صفات ارتباط دارد.^(۳) از طرفی نتایج حاصل از برخی تحقیقات دیگر نشان داده است که نواحی ایترنون ژن هورمون رشد نقش موثری بر تنظیم بیان ژن GH دارند.^(۹)

هدف از انجام این تحقیق شناسایی چند شکلی موجود در نواحی ایترنون ۱ و ۴ ژن هورمون رشد و نیز تعیین فراوانی‌های آللی و ژنتیکی برای این جایگاه‌های ژنی، در مرغان بومی اصفهان و مازندران می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق، در سطح جوامع مرغ بومی مازندران و نیز مرکز اصلاح نژاد مرغ بومی در اصفهان، نمونه‌گیری به طور تصادفی انجام گرفت. پس از خونگیری از ورید بال به داخل سرنگ‌های حاوی EDTA، نمونه‌ها بلافالصه به آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان انتقال داده شد. سپس با استفاده از روش بهینه یافته نمکی^۲ میلر و همکاران (۱۹۸۸)، DNA ژنومی هر نمونه استخراج شد.^(۷) در این تحقیق برای بررسی جایگاه ایترنون ۱ از ۲۱۷ نمونه (۱۲۹ نمونه از اصفهان و ۸۸ نمونه از مازندران) و برای بررسی جایگاه ایترنون ۴ از ۱۳۴ نمونه (۹۱ نمونه از اصفهان و ۴۳ نمونه از مازندران) استفاده شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده بوسیله اسپکتروفوتومتر مورد بررسی و غلظت DNA در محلول استخراج نیز با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۰/۸ درصد و رنگ آمیزی با اتیدیوم برومايد تعیین گردید.

برای تکثیر نواحی ایترنون ۱ و ۴ به ترتیب از آغازگرهای پیشنهاد شده توسط ایپ و همکاران (۲۰۰۱) و نی و همکاران (۲۰۰۲) که توالی آنها در جدول شماره ۱ ارائه شده است استفاده شد.^{(۴)،(۹)} لازم بذکر است که صحت توالی آغازگرهای مورد استفاده، با برنامه BLAST در بانک اطلاعاتی NCBI مورد تایید قرار گرفت.

² Salting-out

طیور بومی هر کشور از منابع ژنتیکی با ارزش آن کشور محسوب می‌شوند. با توجه به مقاومت این پرندگان به تنش‌های محیطی زنده و غیر زنده و استفاده از مواد غذایی مازاد خانگی و زراعی در پرورش آنها، نقش مهمی در اقتصاد خانواده‌های روستایی دارند.^(۱) به منظور انجام برنامه‌های اصلاح نژادی و نیز بهره‌گیری مناسب از توان تولیدی مرغ‌های بومی، بررسی تنوع ژنتیکی و چگونگی حفظ این تنوع از ضروریات است.

هورمون رشد طیور (cGH^۱)، یک هورمون پلی پپتیدی است که در غده هیپوفیز تولید و ترشح می‌شود و در اعمال فیزیولوژیکی متعددی از جمله رشد، ترکیب لاشه، تولید تخم، تولید مثل و پاسخ ایمنی موثر است.^{(۲)،(۵)} این هورمون عموماً توسط تک ژنی که بر روی کروموزوم شماره ۱۹ گاو، ۱۷ انسان، ۱۱ گوسفند و موش خانگی، ۱۰ موش صحراوی، ۱۲ خوک و ۱ مرغ قرار دارد، کد می‌شود.^{(۱۴)،(۱۱)}

ژن cGH با ۴۱۰ جفت باز شامل ۵ اکگزون و ۴ ایترنون، کد کننده پروتئینی با ۱۹۱ اسید آمینه و ۲۵ اسید آمینه در پپتید انتهایی، می‌باشد.^(۸) ناحیه ایترنون این ژن بطور معنی‌داری از ناحیه مشابه خود در پستانداران بزرگتر است.^(۱۱)

تعیین توالی ژن cGH نخستین بار توسط لمب و همکاران (۱۹۸۸) انجام گرفت.^(۶) نتایج حاصل از تحقیق بر روی ژن cGH در ۴ نژاد متفاوت مرغ نیز دال بر وجود ۴۶ مورد چند شکلی تک نوکلئوتیدی (SNPs) در این ژن می‌باشد که ۱۰ جهش در نواحی غیر کد کننده (نواحی اگرون) و ۳۶ جهش در نواحی کد کننده (ایترنون) قرار داشته است و این در حالی است که برخی از این جهش‌ها با صفات لاشه و رشد همبستگی داشته‌اند.^(۱۰)

مطالعه چند شکلی ژن هورمون رشد و تاثیر آن بر روی صفات لاشه و رشد طیور گوشتی نیز نشان داده است که آلل‌های مختلف این ژن ارتباط قابل توجهی با برخی از صفات نظری وزن ماهیچه سینه، نسبت ماهیچه سینه و نسبت چربی بطی دراند.^(۳) لذا بنظر می‌رسد که ژن هورمون رشد یا بطور مستقیم بر روی صفات مذکور موثر است و یا غیر مستقیم و از طریق ژن بزرگ اثر

¹ Chicken Growth Hormone (cGH)

جدول ۱- توالی آغازگرهای مورد استفاده

| جایگاه | آغازگر | توالی |
|-----------|--------|-----------------------------|
| ایترنون ۱ | رفت | 5'-ATCCCCAGGCAAACATCCTC-3' |
| | برگشت | 5'-CCTCGACATCCAGCTCACAT-3' |
| ایترنون ۴ | رفت | 5'-CTAAAGGACCTGGAAGAAGGG-3' |
| | برگشت | 5'-AACTTGTAGGTGGGTCTG-3' |

تنوع آلی بر اساس حضور یا فقدان یک یا تعداد بیشتری از جایگاه‌های برشی تعیین و با ترکیب آللهای مختلف فراوانی‌های ژنتیکی تعیین شدند. سپس از طریق فراوانی‌های ژنتیکی فراوانی‌های آلی برآورد گردیدند. از تست کای مربع نیز برای تعیین تفاوت میان ژنتیک‌های مختلف و آزمون تعادل هاردی- واینبرگ استفاده شد.

نتایج و بحث

استخراج DNA با استفاده از روش نمکی بهینه یافته مقادیر زیادی DNA ژنومی (حدود ۱۰۰ ng) را حاصل کرد که با اسپکتروفوتومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. الکتروفورز DNA استخراجی بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد نیز نشان داد که نمونه‌ها بدون کشیدگی بوده و از کیفیت مطلوبی برخوردار هستند. تکثیر قطعات ۷۷۶ و ۱۱۷۰ bp جفت بازی نیز توسط واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR) صورت گرفت که با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد به تایید رسید (شکل ۱ و ۲). این نتایج با گزارش تحقیقات انجام شده بر روی مرغ‌های بومی چین، توسط ایپ و همکاران (۲۰۰۱) برای ایترنون ۱ و نیز و همکاران (۲۰۰۲) برای ایترنون ۴ مطابقت دارد (۹).

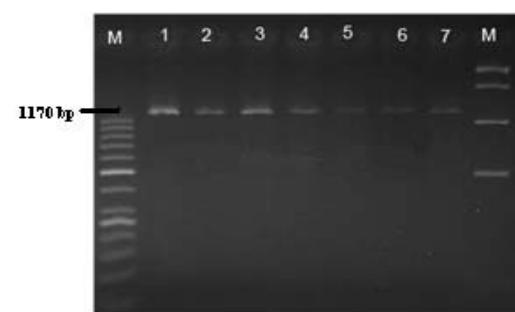


شکل ۱- الکتروفورز محصول PCR (قطعه ۷۷۶ جفت بازی) بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد (M:500 bp)

جهت انجام واکنش PCR از ترکیب مواد با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۰/۵ میکرولیتر DNA الگو، ۰/۷۵ میکرولیتر dNTP ۰/۵ میکرولیتر بافر X 10X، ۰/۵ میکرولیتر Taq میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای ۰/۲ میکرولیتر آنزیم پلی مراز استفاده شد. برنامه دستگاه ترموسایکلر به صورت واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد برای مدت ۴ دقیقه و ۳۰ چرخه شامل ۳ مرحله‌ی واسرشته سازی در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر در دمای ۶۳ درجه سانتیگراد برای مدت ۱۲۰ ثانیه و مرحله تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۹۰ ثانیه تنظیم شد و در نهایت مرحله تکثیر نهایی نیز برای مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد صورت گرفت.

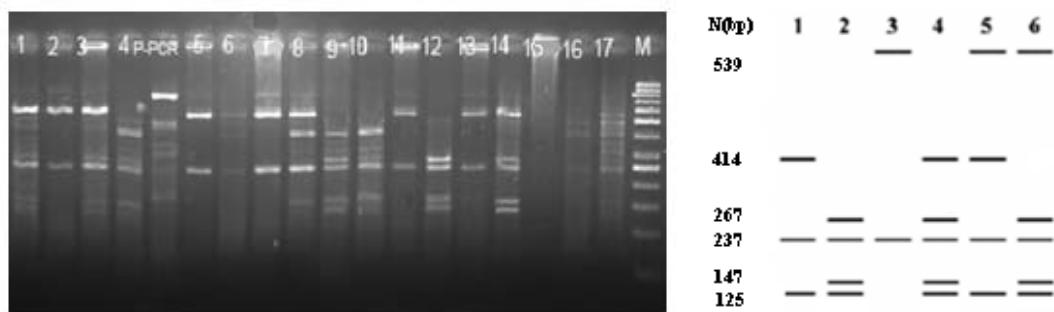
برای هضم آنزیمی ۸ میکرولیتر از محصول PCR توسط ۰/۵ میکرولیتر آنزیم *MspI* و ۲ میکرولیتر بافر آنزیم 10X با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۳ ساعت نگهداری شدند. آنزیم محدودالاثر *MspI* ترتیب نوکلئوتیدی ۳' CCGG ۵' را شناسایی کرده محصول را در این ناحیه برش می‌دهد. محصول هضم آنزیمی به همراه ۲ میکرولیتر بافر بارگیری در چاهک ژل آگارز ۰/۵ درصد بارگذاری شد. ۲ میکرولیتر لدر نیز در کنار نمونه‌ها جهت بررسی استاندارد بودن طول قطعات بارگیری شدند. سپس الکتروفورز با ولتاژ ۸۰ و به مدت ۲ ساعت با استفاده از بافر TBE 1X انجام شد. رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم برومايد صورت گرفت و با استفاده از دستگاه GelDoc از آن عکسبرداری صورت گرفت.

RFLP در این تحقیق بوسیله ۳ آلل متفاوت *M* و *O* مشخص شدند. آلل *M* دارای دو جایگاه برش با آنزیم *MspI* است که تولید کننده‌ی ۳ قطعه به طول‌های ۴۱۴، ۲۳۷ و ۱۲۵ جفت بازی می‌باشد. آلل *N* واحد سه جایگاه برشی است و قطعاتی به طول‌های ۲۶۷، ۲۳۷ و ۱۲۵ جفت بازی تولید می‌نماید. آلل *O* نیز تنها واحد یک جایگاه برش بوده و قطعات ۵۳۹ و ۲۳۷ جفت بازی را تولید می‌نماید. نتایج مشابهی در خصوص وجود این آلل‌ها بر روی مرغ‌های بومی چین گزارش شده است (۴). محققین با بررسی چند شکلی ناحیه ایترنون ۱ توسط آنزیم *MspI* یک جایگاه برش در قطعه ۴۱۴ جفت بازی ملاحظه نمودند که در اثر جانشینی نوکلئوتید "ccTgg" توسط نوکلئوتید "ccGgg" جفت بازی را تولید آلل *N* می‌شود (۸).

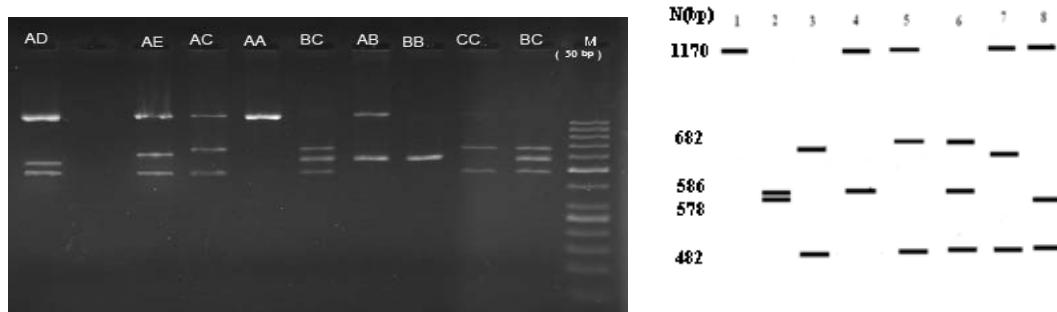


شکل ۲- الکتروفورز محصول PCR (قطعه ۱۱۷۰ جفت بازی) بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد (M:500, 100 bp)

هضم قطعه ۷۷۶ جفت بازی ناحیه ایترنون ۱ توسط آنزیم محدودالاثر *MspI* ۶ الگوی متفاوت RFLP با قطعات برشی به طول‌های ۵۳۹، ۴۱۴، ۲۳۷، ۲۶۷ و ۱۲۵ جفت بازی را تولید نمود که نشان دهنده‌ی برش محصول توسط آنزیم محدودالاثر "ccGgg" در ۳ جایگاه مختلف می‌باشد (شکل ۳). ۶ شکل متفاوت



شکل ۳- RFLP و نقشه چندشکلی *MspI* در ناحیه ایترنون ۱ ژن هورمون رشد



شکل ۴- RFLP و نقشه چندشکلی *MspI* در ناحیه ایترنون ۴ ژن هورمون رشد

جایگاه‌های ژنی مذکور محاسبه گردید که اطلاعات آن در جداول ۲ و ۳ ارائه شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود، در ناحیه ایترون ۱ و در جمعیت اصفهان شش ژنتیپ و در جمعیت مازندران پنج ژنتیپ مختلف ملاحظه شد، بطوریکه ژنتیپ MM با وفور (۵۸۱/۰) بیشترین فراوانی و ژنتیپ NO با وفور (۰/۰۰۷) کمترین فراوانی را در این جمعیت به خود اختصاص دادند. این در حالی است که در جمعیت مازندران بالاترین فراوانی به ژنتیپ OO (۶۱۴/۰) و پایین ترین فراوانی به ژنتیپ MN (۱۱/۰) اختصاص داشت. ژنتیپ هتروزیگوت NO نیز در جمعیت مازندران مشاهده نشد.

بر اساس فراوانی‌های ژنتیپی، فراوانی‌های آللی برآورد گردید که در جامعه اصفهان آلل M (۶۰/۰) و در جمعیت مازندران آلل O (۶۷/۰) بالاترین فراوانی آللی را به خود اختصاص دادند (جدول ۳).

در ناحیه ایترون ۴ و در جمعیت اصفهان شش ژنتیپ مختلف مشاهده شد که ژنتیپ BC با وفور ۲۶/۰ بالاترین فراوانی و ژنتیپ‌های AA و BB هر یک با وفور ۹/۰ پایین ترین فراوانی‌ها را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). ژنتیپ‌های AE و AD نیز در این جمعیت مشاهده نشد. در جمعیت مازندران نیز در این ناحیه هفت ژنتیپ مختلف مشاهده گردید که ژنتیپ BC با وفور ۳۷۳/۰ بالاترین فراوانی و دو ژنتیپ AE و AD هر یک با وفور ۲۳/۰ کمترین فراوانی را به خود اختصاص دادند و ژنتیپ هموزیگوت BB در جمعیت مازندران مشاهده نشد.

در ناحیه ایترون ۴ نیز بر اساس فراوانی‌های ژنتیپی فراوانی‌های آللی برآورد گردید که در جمعیت اصفهان آلل C با وفور ۴۱/۰ و در جمعیت مازندران آلل A با وفور ۳۷/۰ بالاترین فراوانی‌های آللی را به خود اختصاص دادند و آلل‌های D و E نیز هر یک با فراوانی ۱۰/۰ تنها در جمعیت مازندران مشاهده شدند (جدول ۳).

هضم قطعه ۱۱۷۰ جفت بازی ناحیه ایترون ۴، توسط آنزیم محدودالاثر *MspI* نیز ۸ الگوی متفاوت RFLP تولید نمود (شکل ۴). محصولات حاصل از هضم حاکی از وجود سه جایگاه برش با آنزیم *MspI* می‌باشد. الگوی RFLP حاصل از ایترون ۴، تولید قطعات برشی با طول‌های ۱۱۷۰، ۶۸۲، ۵۷۸ و ۵۸۶ بازی را نمود که معرف وجود سه جایگاه برش در قطعه ۱۱۷۰ جفت بازی است. ۸ الگوی متفاوت RFLP بوسیله آلل‌های A، B، C و D مشخص شدند. آلل A واحد هیچ جایگاه برشی در استفاده از آنزیم *MspI* نمی‌باشد. آلل B تنها دارای یک جایگاه برش a در استفاده از این آنزیم است که ۲ قطعه ۵۷۸ و ۵۸۶ جفت بازی را تولید می‌نماید که بدلیل نزدیک بودن طول آنها به یکدیگر به صورت یک باند به نظر می‌رسند. آلل C نیز در صورت استفاده از آنزیم *MspI* یک جایگاه برش b دارد که قطعات ۶۸۲ و ۴۸۲ جفت بازی را تولید می‌نماید. آلل D توامًا دارای دو جایگاه برش a و b و آلل E دارای دو جایگاه برش a و c می‌باشد.

بررسی چند شکلی ناحیه ایترون ۴ در ۲۰ جمعیت مرغ‌های بومی چین حاکی از وجود ۸ شکل هضمی با آنزیم محدودالاثر *MspI* بود که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. این محققین با استفاده از آغازگر PMPS1 PCR با اختلاف ۵۰ جفت بازی برای ایجاد ژنتیپ هتروزیگوت AE را ملاحظه کردند (۹). از طرفی بررسی چند شکلی نواحی ایترون ۱ و ۴ ژن هورمون رشد در مرغان نژاد کاداکنات نیز نشان داد که الگوی RFLP ناحیه ایترون ۱ (۷۷۰ bp) قطعاتی با طول‌های ۵۲۹، ۳۷۳ و ۲۴۱ و ۱۵۶ جفت بازی تولید می‌نماید که در اثر وجود دو جایگاه برش ایجاد شده است و با نتایج حاصل از تحقیق جاری مغایرت دارد. الگوی RFLP ناحیه ایترون ۴ (۱۲۱۶ bp) مرغان نژاد کاداکنات نیز قطعاتی با طول ۱۲۱۶ و ۶۰۸ جفت بازی را تولید نمود که در اثر وجود یک جایگاه برش ایجاد شده است (۱۳). لذا بنظر می‌رسد که ساختار ژنتیکی ژن هورمون رشد مرغان بومی ایران و چین در مقایسه با نژاد کاداکنات از شباهت بیشتری برخوردار می‌باشد.

با بررسی حضور انواع الگوی RFLP برای هر دو جایگاه ایترون ۱ و ۴ در جوامع مورد نظر فراوانی‌های ژنتیپی و آللی

جدول ۲- فراوانی‌های ژنتیپی نواحی ایترنون ۱ و ۴ ژن هورمون رشد

| جایگاه | وفور ژنتیپ‌ها | | | | | | χ^2 | | |
|-----------|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|
| | ایترنون ۱ | MM | NN | OO | MN | MO | NO | | |
| اصفهان | (۰/۵۸۱)۷۵ | (۰/۱۹۴)۲۵ | (۰/۱۷۰)۲۲ | (۰/۰۱۶)۲ | (۰/۰۳۲)۴ | (۰/۰۰۷)۱ | ۲۰۹/۸ | | |
| مازندران | (۰/۲۱۶)۱۹ | (۰/۰۴۶)۴ | (۰/۶۱۴)۵۴ | (۰/۰۱۱)۱ | (۰/۱۱۳)۱۰ | (۰) | ۱۱۱/۶ | | |
| ایترنون ۴ | AA | BB | CC | AB | AC | BC | AE | AD | χ^2 |
| اصفهان | (۰/۰۹۹)۹ | (۰/۰۹۹)۹ | (۰/۱۷۶)۱۶ | (۰/۱۵۴)۱۴ | (۰/۲۰۸)۱۹ | (۰/۲۶۴)۲۴ | (۰) | (۰) | ۰/۹۳ |
| مازندران | (۰/۲۳۲)۱۰ | (۰) | (۰/۱۱۶)۵ | (۰/۰۹۴)۴ | (۰/۱۳۹)۶ | (۰/۳۷۳)۱۶ | (۰/۰۲۳)۱ | (۰/۰۲۳)۱ | ۲۲/۹ |

جدول ۳- فراوانی‌های آللی نواحی ایترنون ۱ و ۴ ژن هورمون رشد

| جایگاه | جمعیت | وفور آللی | | |
|-----------|----------|-----------|------|------|
| | | M | N | O |
| ایترنون ۱ | اصفهان | ۰/۶۰ | ۰/۲۱ | ۰/۱۹ |
| | مازندران | ۰/۲۸ | ۰/.۵ | ۰/۶۷ |
| ایترنون ۴ | اصفهان | ۰/۲۸ | ۰/۳۱ | ۰/۴۱ |
| | مازندران | ۰/۳۷ | ۰/۲۴ | ۰/۳۷ |

دو جامعه از نظر صفات تاثیر پذیر از این جایگاهها دارد که با توجه به عدم وجود اطلاعات فنوتیپی طیور مورد بررسی نمی‌توان در این زمینه اظهار نظری نمود. لذا پیشنهاد می‌شود که در تحقیقات آینده اینگونه تحقیقات بر روی طیوری صورت گیرد که از آنها اطلاعات فنوتیپی صفات اقتصادی نیز در دسترس می‌باشد تا بتوان ارتباط میان آلل‌های موجود در جایگاه‌های مورد بررسی را با صفات اقتصادی مورد بررسی قرار داد.

بررسی چند شکلی ناحیه ایترنون ۱ مرغ‌های سویه لگهورن که برای تولید تخم انتخاب شده‌اند نشان داده است که وفور آلل O در این جمعیت بیشترین مقدار (۰/۹۵) و وفور آلل N در آن صفر بوده است (۴). لذا بر همین اساس محققین احتمال داده‌اند که بالا بودن راندمان تولید تخم در سویه لگهورن ممکن است با فقدان آلل N یا بالا بودن وفور آلل O مرتبط باشد (۴).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که نواحی ایترنون ۱ و ۴ ژن هورمون رشد در مرغ‌های بومی اصفهان و مازندران از چند شکلی نسبتاً بالایی برخوردار هستند. تفاوت موجود در فراوانی‌های ژنی و ژنتیپی یافت شده بین دو جمعیت اصفهان و مازندران در جایگاه‌های مورد بررسی در این تحقیق حکایت از تفاوت ژنتیکی

منابع

۱. ترکاشوند، ر. ۱۳۸۴. مروری بر تحولات مرغ بومی ایران. مجموعه مقالات اولین همایش مرغ بومی کشور
2. Apa R, Lanzone A and Micheli F (1994) Growth hormone induces invitro maturation of follicle and cumulus-enclosed rat oocytes. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 106: 207-212.
3. Bingxue Y, Xuemei D, Jing F, Xiaoxiang H, Changxin W and Ning L (2003) Single nucleotide polymorphism analysis in chicken growth hormone gene and its associations with growth and carcass traits. *Chinese Science Bulletin*, 48:1561-1564.
4. Ip SCY, Zhang X and Leung FC (2001) Genomic growth hormone gene polymorphisms in native chinese chickens. *Experimental Biology and Medicine*, 226:458-462.
5. Kelley SM and Felton DL (1995) Experimental basis for neural immune interactions. *Physiological Research*, 75: 77-106.
6. Lamb LC, Galehouse DM and Foster DN (1988) Chicken growth hormone cDNA sequence. *Nucleic Acide Research*, 16:9339
7. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out produce for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16:1215.
8. Mou L, Liu N, Zadworny D, Chalifour L and Kuhnlein U (1995) Presence of an additional PstI fragment in intron 1 of the chicken growth hormone-encoding gene. *Gene*, 160:313-314.
9. Nie Q, Ip SCY, Zhang X, Leung FC and Yang G (2002) New variations in intron 4 of growth hormone gene in chinese native chickens. *Journal of Heredity*, 93:277-279.
10. Nie Q, Sun B, Zhang D, Luo C, Ishag NA, Lei M, Yang G and Zhang X (2005) High diversity of the chicken growth hormone gene and effects on growth and carcass traits. *Journal of Heredity*, 96:698-703.
11. Shaw EM, Shoffner RN, Foster DN and Guise KS (1991) Mapping of the growth hormone gene by in situ hybridization to chicken chromosome 1. *Journal of Heredity*, 82:505-508.
12. Tanaka M, Hosokawa Y, Watahiki M and Nakashima K (1992) Structure of the chicken growth hormone-encoding gene and its promoter region. *Gene*, 112:235-239.
13. Thakur MS, Parmar SNS, Chaudhari MV and Bhardwaj JK (2009) Growth hormone gene polymorphism and its association with egg production in Kadaknath chicken. *Livestock Research for Rural Development*, 21 (8).
14. Yerle M, Lahbib-Mansais Y, Thomsen PD and Gellin J (1993) Localization of the porcine growth hormone gene to chromosome. *Animal Genetics*, 24:129-131.

