پژوهش و سازندگی
امور دام و آبزیان شماره ۷۶ پاییز ۱۳۸۶

# بررسی فراوانی شکل‌های مختلف آللی موجود در ناحیه اگزون شش از ژن PIT1 در گاو نژاد سرابی و گلپایگانی

• **جواد توکلیان**
عضو هیأت علمی‌موسسه تحقیقات علوم دامی‌کشور
• **سیروس زینلی**
بخش بیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران
• **نادر اسدزاده**
عضو هیأت علمی‌موسسه تحقیقات علوم دامی‌کشور
• **آرش جوانمرد**
مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی
• **محمدحسین بناءبازی**
عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور
• **بابک عظیمی‌فر**
بخش بیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران

تاریخ دریافت: شهریورماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: فروردین‌ماه ۱۳۸۵

Email:tavakolian_ASRI@yahoo.com

**چکیده**

**ژن PIT1 از جمله ژن‌های کاندیدا برای بهبود خصوصیات تولید شیر در دام‌های شیرده می‌باشد که در دهه اخیر بخشی از تحقیقات ژنتیک مولکولی در زمینه اصلاح نژاد گله‌های شیرده را به خود اختصاص داده است. این ژن در واقع یک فاکتور ویژه نسخه برداری هیپوفیزی می‌باشد که باعث تظاهر مناسب ژن‌های هورمون رشد (GH) و پرولاکتین(PRL) درهیپوفیز قدامی می‌شود. این ژن با ساختاری شامل ۶ اگزون و ۵ اینترون بوده و از لحاظ جایگاه کروموزومی‌در گاو، روی کروموزوم شماره یک قرار دارد. هدف این پژوهش بررسی فراوانی شکل‌های مختلف اللی ژن PIT1 در جمعیت‌های گاو سرابی و گلپایگانی ایران با استفاده از تکنیک PCR – RFLP می‌باشد. استخراج DNA از ۸۲ نمونه گاو سرابی و ۴۲ نمونه گاو گلپایگانی بدست آمد. سپس با استفاده از آغازگرهای مناسب، ناحیه‌ای به طول ۶۰۰ جفت بازی از ناحیه اگزون ۶ تکثیر گردید. قطعه حاصل از تکثیر، توسط آنزیم برشی HinFI مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. ژنوتیپ‌های AA، AB و BB به ترتیب یک قطعه ۶۰۰ جفت بازی ، سه قطعه ۶۰۰ ، ۲۴۳ ، ۳۵۷ (هتروزیگوت) و دو قطعه ۲۴۳ ، ۳۵۷ جفت بازی را ایجاد نمودند. فراوانی ژنوتیپ‌ها AA، AB و BB به ترتیب ۵۷/۳٪ ، ۳۹ ٪ ، ۳/۷ ٪ برای گاوهای سرابی و ۵۵/۳٪ ، ۳۶/۸٪ ، ۷/۹٪ برای گاوهای گلپایگانی محاسبه شده‌اند. همچنین فراوانی آللی ، آللهای A، B به ترتیب برای گاوهای سرابی ۷۶/۸ ٪ و ۲۳/۲٪ و برای گاوهای گلپایگانی ۷۳/۷٪ ، ۲۶/۳٪ محاسبه شدند. آزمون کای اسکور( ۲) نشان داد که تعادل هاردی- واینبرگ در جمعیت گاوهای سرابی و گلپایگانی نمونه گیری شده برای ژن PIT1 برقرار نمی‌باشد. شاید بتوان از نتایج حاصل از چنین پژوهش‌هایی در جهت بررسی بازده برنامه‌های آمیخته‌گری، بین گاوهای پرتولید خارجی با نژادهای بومی‌کشور به منظور دستیابی به بهترین ترکیب ژنتیکی استفاده نمود.**

**کلمات کلیدی: گاو بومی ایران، چند شکلی، ژن PIT1، PCR-RFLP**

Pajouhesh & Sazandegi No: 76 pp: 189-195

**Analysis of bovine PIT1 gene polymorphism in Iranian native cattle (*Bos tauruse*) using PCR Based RFLP**

*By: J. Tavakolian, C. Zeinali, N. Asadzadeh, A. Javanmard, M. H. Banabazi, B. Azimifar*

The part of the bovine genome showing a superior action and explaining the major part of variation of the economical production traits were known as QTL. PIT1, which is also termed hormone factor-1, is a pituitary-specific transcription factor which has is responsible for pituitary development and hormone expression in mammals. The main factions of PIT1 are binding and trans-activity the promoters of both growth hormone (GH) and prolactin (PRL) genes and polymorphism in this gene had significant relationships with both milk and meat production traits. This gene was subjected to different molecular studies as key for genetic variation in dairy cattle. This study carried out to analysis of HinfI polymorphism in PIT1 in Iranian Sarabi and Gholpayeghany cattle. DNA was extracted from blood or sperm samples collected from 82 Sarabi and 42 Gholpayeghany bulls and cows and submitted for polymerase chain reaction (PCR) followed by digestion with HinfI restriction enzyme. The frequency of the A and B alleles of this gene was 76.8 and 23.2 percent in Sarabi cattle breeds and 73.7nd 26.3 percent in Gholpayeghany cattle breeds respectively.

**Key Words:** Milk, PIT-1, Restriction Fragment Length Polymorphism, Allele Frequency

## مقدمه

شیر و فرآورده‌های لبنی حاصل از آن، مهمترین منابع غذائی مورد اســتفاده در تغذیه هستند که احتیاجات انرژی و پروتئین با کیفیت بالا و انواع ویتامین‌ها و مواد معدنی را برآورده می‌کنند(۴). علی رغم اینکه انتخاب فنوتیپی و اســتفاده از مدل‌های حیوانی، همواره توانســته پیشرفت ژنتیکی مناسبی را در نسل‌های آتی به وجود آورد اما نیاز به روش‌هائی که منجر به کاهش فاصله نســلی شده و همچنین دقت ارزیابی‌های ژنتیکی را بیش از بیش افزایش دهد، همواره احســاس شده است. لذا یکی از راهکارهای احتمالی مناسب موجود برای دســتیابی به این اهداف، کاربرد نشانگرهای ژنتیکی می‌باشد که بطور مستقیم و یا غیر مستقیم بر تولید شیر و خصوصیات آن تاثیرگذار می‌باشــد (۱۴،۹). ژن PIT1[1] از جمله ژن‌های کاندیدا برای بهبود خصوصیات شــیر تولیدی در دام‌های شیرده می‌باشد که در دهه اخیر زمینه بسیاری از تحقیقات ژنتیک مولکولی در زمینه اصلاح نژاد گله‌های شیرده را به خود اختصاص داده اســت(۷، ۸). این ژن در واقع یک فاکتور ویژه نسخه برداری هیپوفیزی می‌باشــد که باعث تظاهر مناســب ژن‌هــای هورمون رشــد[2](GH) و پرولاکتین [3](PRL) در هیپوفیز قدامی می‌شوند (۹،۵،۴). ممانعت از ســنتز این هورمون متعاقباً از تظاهر هورمون رشــد و پرولاکتین جلوگیری می‌کند. این ژن دارای ساختاری با ۶ اگزون و ۵ اینترون می‌باشــد. از لحاظ جایــگاه کروموزومی‌در گاو در کروموزوم شــماره یک قرار دارد(۶). بــا توجه به اینکه دو هورمون رشــد و پرولاکتین نقش کلیدی در توسعه و نمو پستان و تولید شــیر و خصوصیات تولید شیر دارد، شناســایی جهش‌هــای واقــع در سطح ژن PIT1 بالطبع نقش مهمی‌در صفات تولید شــیرخواهد داشت (۲، ۴، ۵). Woolard و همکاران(۱۲) اولین کســانی بودند که پلی مورفیسم در ســطح این ژن را گزارش کردند. Moody و همکاران (۷) نشان دادند که آلل A از ژن PIT1 نقش قابل توجهی را در تولید شیر، بطوریکــه گاوهای با ژنوتیپAB وAA حــاوی مقادیر بالائی از شیر تولیدی نســبت به ژنوتیپ BB بودند. Zwierzchowski و همــکاران (۹) گــزارش کردندکــه گاوهای ماده ای کــه حاوی ژنوتیپ AB از ژن PIT1 هســتند، به میزان۱/۳ الی ۱/۶کیلوگرم شــیر بالاتری نســبت به ژنوتیپ‌های BB و AA تولید می‌کنند. فراوانــی الــل A در این تحقیــق ۰/۲۵ برای گاوهای لهســتانی گــزارش شــد. Chen و همکاران (۵) ارتباط بیــن ژن PIT1 را با عملکرد سیســتم ایمنی جنین مورد بررســی قرار دادند. Ya و همــکاران (۱۳) ارتبــاط بین چند شــکلی‌های موجود در ژن PIT۱ را بــا وزن تولد در خوک‌های مختلف مورد بررســی قرار دادند. Stancekova و همکاران (۱۱) به بررســی ارتباط چند شکلی‌های موجود درژن PIT1 با صفات لاشه در نژادهای خوک پرداختند. تحقیق حاضر، به منظور شناســایی ژنوتیپ‌های ژن PIT1 و فراوانــی آللهای آن در گاوهای نژاد ســرابی و گلپایگانی به کمک روش مولکولی PCR اجرا گردید.

## مواد و روش‌ها

### نمونه‌گیری

پس از بررسی مناطق پراکنش گاوهای سرابی در استان آذربایجان شرقی، ۸۲ نمونه خون (نر، ماده) از ایستگاه‌های پشتیبانی گاو سرابی شبستر و شهرستان سراب و همچنین روستاهای تابعه این ایستگاه‌ها اخذ گردید و در مورد گاو گلپایگانی به جهت آمیخته‌گری‌های صورت گرفته این نژاد با گاو براون سوئیس در منطقه و نیاز به حصول اطمینان از خالص بودن نمونه‌ها، ۴۲ نمونه خون (نر، ماده) از جمعیت‌های گاو گلپایگانی از ایستگاه‌های پشتیبانی گاو گلپایگانی واقع در دلیجان و گلپایگان اخذ گردید. در گاوهای بزرگ خونگیری از ورید دمی و در گوساله‌ها از ورید وداج صورت گرفت. برای جلوگیری از انعقاد خون از EDTA استفاده شد و نمونه‌ها در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل و تا مرحله استخراج DNA ژنومی در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. گاوهای نژاد سرابی و گلپایگانی از جمله نژادهای بومی ایران می‌باشد که برخی ازخصوصیات تولیدی مهم این نژادها به قرار جدول زیر است.

جدول شماره ۱- برخی از خصوصیات تولیدی مهم نژادهای گاو سرابی و گلپایگانی (توکلیان. ۱۳۷۸)

| گاو گلپایگانی | گاو سرابی | صفت مورد مطالعه |
|---|---|---|
| ۸۲۳ | ۱۵۲۱ | میانگین شیر تولیدی (کیلوگرم) |
| ۳۷/۴ | ۷/۶ | میانگین تولید شیر روزانه (کیلوگرم) |
| ۵/۱۸۸ | ۲۵۰ | تعداد روزهای شیردهی (روز) |
| ۹۹/۴ | ۵/۴٪ | درصد چربی شیر (٪) |

### استخراج DNA

استخراج DNA از خون کامل مطابق روشBoom و همکاران (۳) با استفاده از کیت Diatom و (IsoGene, Moscow) انجام گرفت. این روش مبتنی براستفاده از ماده لیز کننده گوانیدین تیوسیانات و جذب کننده سیلیکاژل می‌باشد. بدین منظور ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر از خون برداشته و سپس ۵۰۰ میکرولیتر بافر هضم کننده (۵M گوانیدین تیوسیانات، ۲۰mm EDTA، ۴۰ Tris mm، ۴۰ گرم Triton ×۱۰۰، ۱۰ گرم DTt ) به نمونه اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در درجه حرارت ۶۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس ۲۰ میکرولیتر محلول نوکلئاز (۴ گرم ذرات سیلیکا و ۱۰۰ میکرولیترگوانیدین) اضافه شد و مجموعاً به مدت ۱۰ دقیقه به آرامی ورتکس گردید. سپس به محیط همگن شده ۴۰۰ میکرو لیتر بافرسالین ( EDTA۲۰mm, Tris-Hcl ۱۰mm, Kcl ۱M, Nacl ۱M) اضافه و در نهایت از طریق ماده Extra Gene (۱۰٪ رزین ۰/۰۲ ٪ ماده رنگی Orangg، ۰/۰۱٪ Triton ×۱۰۰) DNA زرد رنگ از سایر ناخالصی‌ها جدا گردید. جهت تعیین غلظت DNA استخراج شده، از روش الکتروفورز مقایسه‌ای آگارز همراه با مقادیر مشخصی DNA فاژ لامبدا استفاده گردید

### انتخاب آغازگرها

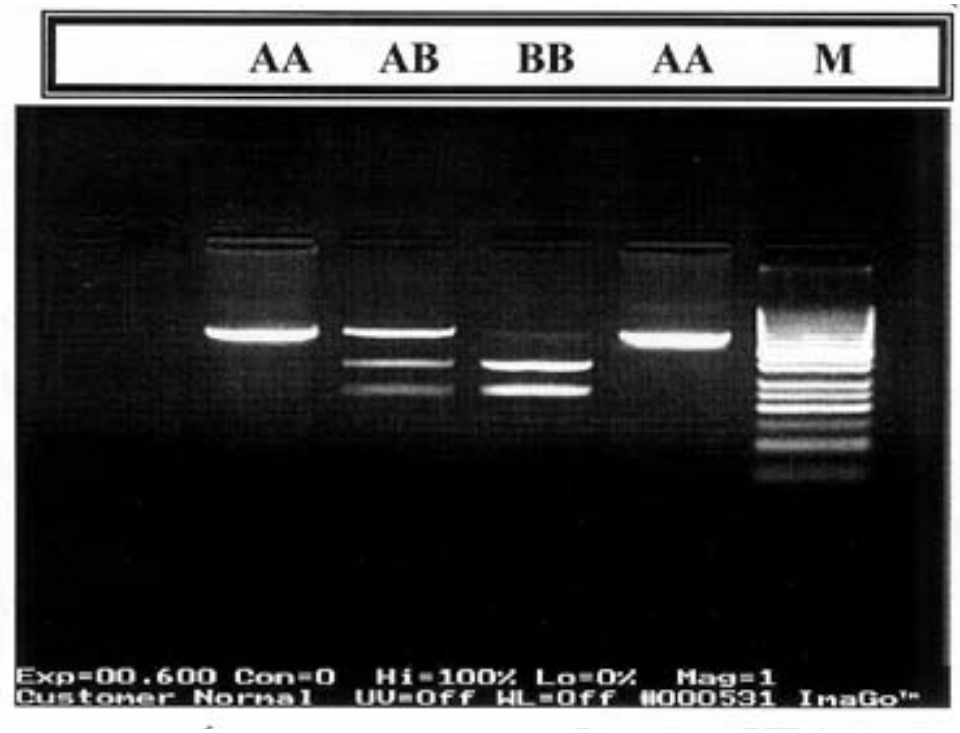
با توجه به آغازگرهای موجود در مقاله Moody و همکاران (۷)، آغازگرهای این مقاله توسط برنامه نرم افزاری GeneRunner طراحی شدند به نحوی که ناحیه تکثیر شونده حاوی یک جایگاه پلی مورف آنزیم برشی HinFI می‌باشد. جفت آغازگرهای انتخابی توسط شرکتPRIM (ITALY) سنتز گردید.

توالی آغازگر۱ : ۵′-GAGCcTACATGAGACAaGCAT -۳′

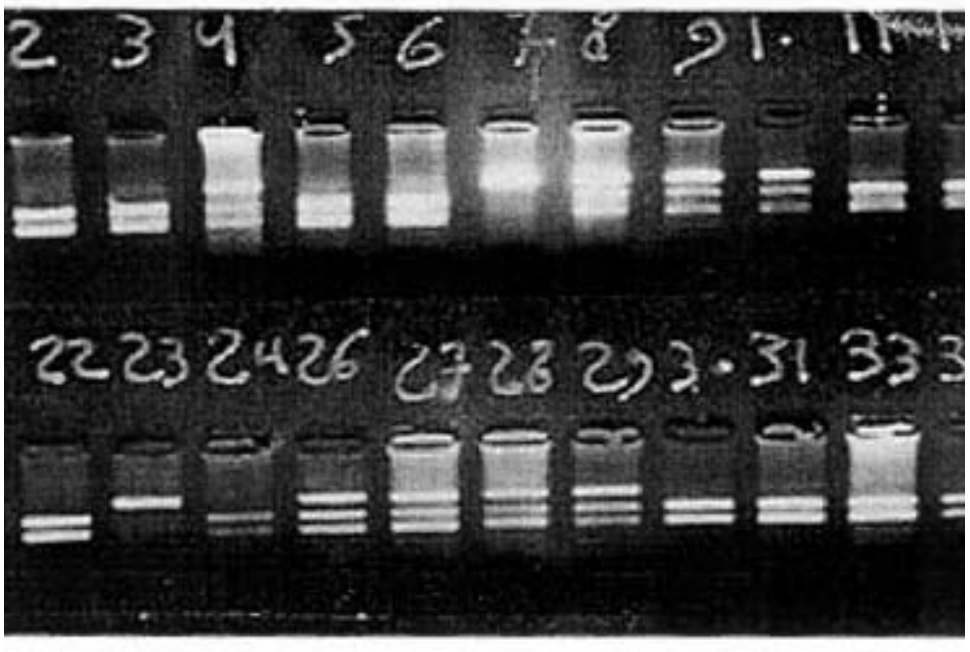
توالی آغازگر۲ : ۵′-AaaTGTCAaaCAaTGTGTGCcTtCTGA -۳′

### واکنش زنجیرهای پلیمراز[۴] (PCR)

غلظت نهایی مواد در ۲۵ میکرولیتر عبارت بودند از: یک واحد آنزیم Taq Polymerase، ۲۰۰ میکرومول از هر dNTP ۲۰۰ میلی مول




**شکل شماره ۱- تعیین ژنوتیپ‌های مختلف PIT1 پس از هضم آنزیمی**
**(ستون ۱ و ژنوتیپ AA، ستون ۲ ژنوتیپ AB، ستون ۳ ژنوتیپ BB و ستون سایز مارکر می‌باشد).**



**شکل شماره ۲- تعیین ژنوتیپ‌های نمونه‌های مختلف PIT1 در دو نژاد سرابی و گلپایگانی.**
**ردیف اول مربوط به هضم آنزیمی و الگوهای الکتروفورزی گاوهای سرابی و ردیف دوم متعلق به گاوهای گلپایگانی می‌باشد.**

$MgCl_2$، ۱۰-۲۰ پیکامول مخلوط آغازگرها، ۱۰۰-۵۰ نانوگرم DNA و بافر استاندارد. واکنش PCR با برنامه حرارتی زیر به تعداد ۳۵ سیکل در دستگاه ترموسایکلر (مدل UNIOII) انجام شد. برنامه حرارتی عبارت بود از: ۹۴ درجه سانتی‌گراد جهت واسرشته شدن DNA به مدت ۴۵ ثانیه، دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد جهت اتصال آغازگرها به مدت ۱ دقیقه و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد جهت سنتز به مدت ۱ دقیقه.

### هضم آنزیمی (RFLP)[۵]

هضم آنزیمی‌نمونه‌ها با استفاده از آنزیمی‌برشی HinFI و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شبانه روز انجام گرفت.

### الکتروفورز

جهت مشاهده محصولات PCR از ژل آگارز ۱/۸ ٪ و ولتاژ ۷۰-۱۰۰ ولت به مدت ۲ ساعت استفاده شد. رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید (۱۰mg/ml) انجام گرفت. قطعه تکثیر شده با نور UV با طول موج ۲۳۰ نانومتر مشاهده شد. برای تائید قطعات تکثیر شده و نتایج حاصل از هضم آنزیمی‌از سایز مارکر ۱Kb Ladder متعلق به شرکت Fermantase استفاده گردید.

### تجزیه و تحلیل آماری

برای برآورد فرآوانی آللها، محاسبه هتروزایگوسیتی و آزمون کای اسکوئر (۲) از نرم افزار PopGene32 استفاده گردید.

## نتایج و بحث

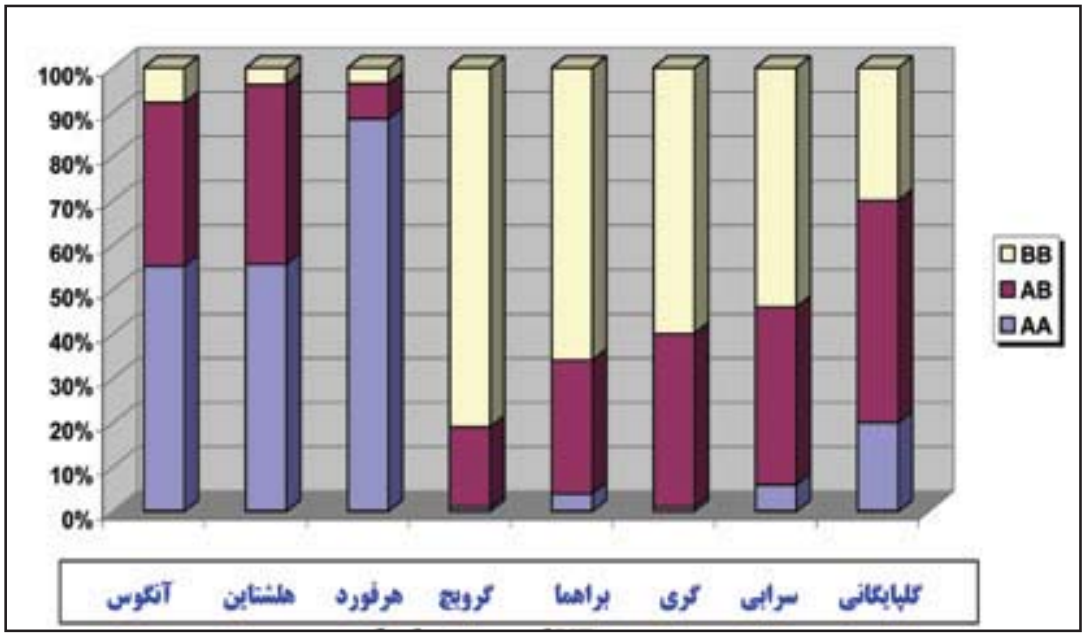
سه ژنوتیپ Aa، AB و Bb به ترتیب قطعات ۶۰۰ جفت بازی ۲۴۳،۶۰۰، ۳۵۷ جفت بازی (هتروزیگوت) و ۲۴۳،۳۵۷ جفت بازی را ایجاد نمودند(شکل شماره ۲و۳) فراوانی ژنوتیپ‌های Bb,AB,Aa در گاوهای سرابی و گلپایگانی به ترتیب ۵۷/۳ و ۳۹، ۳/۷ و۵۵/۳، ۳۶/۸، ۷/۹ محاسبه گردید( جدول ۲).

در دو جمعیت گاوهای گلپایگانی و سرابی ژنوتیپ‌های Aa وBb به ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی را به خود اختصاص داده بودند. فراوانی ژنوتیپ‌های هتروزیگوت نیز در حد متوسط برای هر دو جمعیت به دست آمد. فراوانی آللهای A وB برای جمعیت گاوهای سرابی و گلپایگانی به ترتیب ۷۶/۸، ۷۳/۷ درصد برای آلل A و ۲۳/۲، ۲۶/۳درصد برای الل B محاسبه گردید. آزمون کای اسکوئر(۲) نشان داد که تعادل‌هاردی واینبرگ در جمعیت‌های گاوهای گلپایگانی و سرابی برای ژن PIT1 برقرار نمی‌باشد. همچنین آزمون مقایسه نسبتها بر اساس جدول توافقی اعداد نشان داد که بین فراوانی ژنوتیپ‌ها در نژاد سرابی و نژاد گلپایگانی تفاوت آماری معنی داری وجود ندارد. نمودار شماره یک توزیع فراوانی آللی A وB از ژن PIT1 در گاوهای سرابی و گلپایگانی و مقایسه آن با تحقیقات مشابه انجام شده در دنیا را نشان می‌دهد.

در این تحقیق مطابق جدول شماره یک، در هر دو نژاد فراوانی ژنوتیپAa بیش از سایر ژنوتیپ‌ها محاسبه شد. آزمون تعادل‌هاردی واینبرگ بر روی فراوانی ژنوتیپی هر دو نژاد نشان داد که اولاً هر دو جمعیت مورد بررسی به طور معنی داری از تعادل مذکور انحراف نشان دادند که علت آن را می‌توان احتمالاً به کوچکی جمعیت‌های موجود بخصوص در ایستگاه‌های امور دام و همچنین نقل و انتقالات مکرر بین ایستگاه‌ها دانست. ثانیاً میانگین هتروزیگوتی مشاهده شده در گاوهای سرابی و گلپایگانی برای این جایگاه تقریبا یکسان بود( ۳۹ درصد در مقابل ۳۶/۸ درصد) و در سطح پایینی قرار داشت. طبق نمودار شماره ۱ مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف این جایگاه ژنی با پژوهش‌های مشابه در نژادهای گاو دنیا که از یک متدولوژی یکسان ( آغازگرهای مشابه، آنزیم برشی مشابه، محل جهش یکسان در ژن PIT1) استفاده کرده بودند، نتایج کم و بیش متفاوت را نشان داد. فراوانی ژنوتیپAa در گاوهای گلپایگانی، سرابی، براهما، گریچ کمتر از فراوانی ژنوتیپ Bb بود. برعکس در گاوهای هرفورد، هلشتاین و آنگوس ژنوتیپ Aa نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها، فراوانی بیشتری را به خود اختصاص داده بود Moody و همکاران (۷). بهر حال با توجه به اینکه صفت تولید شیر و خصوصیات وابسته به آن توسط برآیند اثر چندین جایگاه ژنی کنترل می‌شود، بررسی وضعیت یک جایگاه در یک ژن و بالاتر از آن بررسی چندشکلی‌های یک ژن بزرگ اثر به تنهایی برای هر نوع نتیجه گیری جامع کافی نیست و تعیین ژنوتیپ توام چندین ژن عمده تاثیر گذار بر تولید شیر مورد نیاز است. شاید بتوان از نتایج حاصل از چنین پژوهش‌هایی در جهت ارزیابی نتایج حاصل از دورگ گیری بین گاوهای خارجی و بومی‌با هدف افزایش شیر و رسیدن به بهترین ترکیب ژنتیکی استفاده کرد.

**جدول شماره ۲- تعداد ژنوتیپ‌ها، فراوانی آللی و آزمون کای - اسکوئر ($\chi^2$) برای ژن PIT1 گاوهای نژاد سرابی و گلپایگانی**

| تعداد افراد | فراوانی ژنوتیپی(درصد) | | | $\chi^2$ | فراوانی اللی (درصد) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | AA | AB | BB | | A | B |
| گاوهای سرابی(۸۲ راس) | ۵۷/۳ | ۳۹ | ۳/۷ | **۷۰/۷۱۵ | ۷۶/۸ | ۲۳/۲ |
| گاوهای گلپایگانی(۴۲ راس) | ۵۵/۳ | ۳۶/۸ | ۷/۹ | **۲۰۳/۶۶ | ۷۳/۷ | ۲۶/۳ |




**نمودار ۱- توزیع فراوانی آللی و مقایسه آل‌های مختلف PIT1 گاوهای سرابی و گلپایگانی با سایر نژادهای مختلف دنیا (۷، ۹)**


## سپاسگزاری

بدین‌وسیله از جناب آقای دکتر کریم کاظمین خواه ریاست مرکز تحقیقات تبریز و مسئولین محترم معاونت امور دام استان آذربایجان و ایستگاه‌های شبستر، سراب، دلیجان، گلپایگان و همچنین از موسسه تحقیقات علوم دامی‌کشور به جهت همکاری صمیمانه‌ای که داشتند سپاسگزاریم.


## پاورقی‌ها

1- Pituitary Transcription Factor
2- Growth Hormone
3- Prolactin
4- Polymerase Chain Reaction
5- Restriction Fragment Length Polymorphism

## منابع مورد استفاده


۱ - توکلیان، جواد. ۱۳۷۸؛ نگرشی بر ذخائر ژنتیکی دام و طیور بومی‌ایران. موسسه تحقیقات علوم دامی‌کشور.

2-Anderson, B., and M.G.Rosenfeld.1994; Pit-1 determines cell types during development of the anterior pituitary gland. J.Biol.Chem.269: 29335.

3- Boom, R., Sol, C. J.A., Salimans, M., Jansen, C.L., Wertheim-Van Dillen, P.M.E. & Van Der Noordaa, J. 1989; Rapid and simple method for purification of nucleic acids. Journal of Clinical Microbiology., 28(3) : 495-503

4- Chenht, C., H. Geldrmann. 1996. Variants within 5-Flanking region and the intron I of bovine growth hormone gene. Animal Genetic. 27: 329-332.

5- Chen, HT. LA Schuler, and RD Schultz.1997; Growth hormone and Pit-1 expression in bovine fetal lymphoid cells. Domest Anim Endocrinol, November 1, 1997; 14(6): 399-407.

6-CK Tuggle, TP Yu, J Helm, and MF Rothschild. 1993; Cloning and restriction fragment length polymorphism analysis of a cDNA for swine PIT-1, a gene controlling growth hormone expression. Anim Genet, February 1, 1993; 24(1): 17-21.

7-Moody, E., D. Pomp and W.Barendse.1995; Short communication: Restriction fragments length polymorphism in amplification products of the bovine PIT1 gene and assignment of PIT1 to bovine chromosome 1.Animal Genetics.26:45-47.

8-Pfaffle, R. W., G. E. Dimattia, and J.S.Parrks.1992; Mutation of the POU-specific domain of Pit-1 and hypopitarsim without

pituitary hypoplasia. Sceince.257: 1118

9-Zwierzchowski,L. Oprzadek,J. Dymnicki,E. Dzierzbicki,P.2001; An association of growth hormone, kappa-casein, beta-Lactoglobulin, Leptin and Pit-1 loci polymorphism with growth rate and carcass traits in beef cattle. Animal-Science-Papers-and-Reports. 19: 1, 65-77; 29.

10-Tanaka-M; Yamamoto-I; Ohkubo-T; Wakita-M; Hoshino-S; Nakashima-K:.1999; cDNA cloning and developmental alterations in gene expression of the two Pit-1/GHF-1 transcription factors in the chicken pituitary. General-and-Comparative-Endocrinology. 1999, 114: 3, 441-448;

11-Stancekova-K; Vasicek-D; Peskovicova-D; Bulla-J; Kubek-A.1999; Effect of genetic variability of the porcine pituitary-specific transcription factor (PIT-1) on carcass traits in pigs. Animal-Genetics. 1999, 30: 4, 313-315.

12-Wollard, J., C.C.B. Schmitz, A. E. Freeman and C.K Tuggle.1994; Rapid communication: HinFI polymorphism at the Bovine Pit-1 locus. J. Anim. Sci. 72:3267.

13-Ya, T.P., C.K. Tuggle, C.B. Schmitz and M.F.Rothschild.1995; Association of Pit-1 polymorphism with growth and carcass traits in pigs. J. Animal Science 73:1283.