

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU BƯỚC ĐẦU VỀ TƯƠNG QUAN DI TRUYỀN GIỮA GEN *PIT-1* VỚI NĂNG SUẤT VÀ CHU KỲ SỮA Ở BÒ HOLSTIEN FRIESIAN NUÔI TẠI LÂM ĐỒNG

Nguyễn Thị Thu<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Minh Hằng<sup>2</sup>, Nguyễn Hữu Đức<sup>2</sup>, Hà Thanh Tùng<sup>3</sup>,  
Lê Thị Châu<sup>3</sup>, Lê Văn Ty<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Diệu Thúy<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>*Viện Công nghệ sinh học; <sup>2</sup>Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội;*

<sup>3</sup>*Viện Nghiên cứu khoa học Tây Nguyên*

*E.mail\*: ntdthuy@ibt.ac.vn*

Ngày gửi bài: 17.05.2013

Ngày chấp nhận: 25.08.2013

### TÓM TẮT

PIT-1 là một yếu tố phiên mã của tuyến yên ở động vật và có vai trò kiểm soát sự phát triển bình thường của 3 loại tế bào thùy trước tuyến yên cũng như mức độ biểu hiện của các hormone do các tế bào này tiết ra. Nghiên cứu này tiến hành phân tích đa hình di truyền 2 đột biến điểm (SNPs) gen *PIT-1* và đánh giá mối tương quan di truyền giữa các đa hình này với tính trạng sản lượng sữa của giống bò Holstein Friesian. Kỹ thuật PCR-RFLP sử dụng enzyme cắt *TaqI* và *HinfI* để phân tích hai SNPs thuộc exon E2 và E6. Kết quả phân tích trên 53 cá thể bò cái Holstein đang khai thác sữa cho thấy tần số xuất hiện kiểu gen AA/AB và BB của *PIT-1E2* lần lượt là 45,3; 28,3 và 26,4%, trong khi đó, tần số xuất hiện kiểu gen TT, TG và GG của *PIT-1E6* lần lượt là 7,5; 18,9 và 73,6%. Phần mềm Minitab được sử dụng trong phân tích tương quan di truyền kiểu gen – kiểu hình. Kết quả bộc lộ tương quan giữa các kiểu gen *PIT-1E2* với tính trạng năng suất sữa ( $P=0,037$  và  $p=0,28$ ), với tính trạng số ngày vắt sữa ( $P=0,015$  và  $r=0,306$ ) và x sự khác biệt về tính trạng năng suất sữa giữa các kiểu gen của *PIT-1E6* là không có ý nghĩa thống kê ( $P>0,05$ ). Bò mang kiểu gen AA cho năng suất sữa cao hơn so với bò mang kiểu gen AB và BB. Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng sử dụng đa hình *PIT-1E2* trong hỗ trợ chọn giống bò sữa năng suất sữa cao.

Từ khóa: Tương quan di truyền, Bò Holstein Friesian, năng suất sữa, *PIT-1* gene, số ngày cho sữa.

### Genetic Association between Single Nucleotide Polymorphisms of *PIT-1* Gene and Milk Production in Holstein Friesian Cows

#### ABSTRACT

PIT-1, a regulatory transcription factor, plays a role in pituitary cell differentiation and proliferation and expression level of hormones in the anterior pituitary gland. The objective of present study was to identify the single nucleotide polymorphisms of *PIT-1* gene and their association with milk yield in Holstein Friesian (HF) cows. Milk yield was recorded for the whole lactation period. PCR-RFLP technique was applied for genotyping of two SNPs belonging to exon 2 (E2) and exon 6 (E6) with restriction enzymes *TaqI* and *HinfI*. The analysis of 53 Holstein milking cows showed that genotypic frequencies of AA, AB and BB of *PIT-1E2* were 45.3, 28.3 and 26.4%, respectively. For the *PIT-1E6*, the highest frequency of GG genotype (73.6%), the lowest frequency of genotype TT (7.5%) and TG genotype (18.9%) were found. Minitab software was used to analyze genotype - phenotype association. The result revealed that there exists positive association between locus *PIT-1E2* with milk yield ( $P= 0.037$  and  $p = 0.28$ ) and number of milking day ( $P=0.015$  and  $r= 0.306$ ), whereas, no association of *PIT-1E6* was found ( $P>0.05$ ). Cows with AA genotype yielded more milk than those with BB and AB genotypes. These finding showed the potential use of AA genotype of *PIT-1E2* in assisting breeding for increased milk production of Holstein Friesian cows.

Keywords: Genetic correlation, Holstein cows, milk yield, Lactation length, *PIT-1* gene.

#### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê của bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, hiện nay, số lượng bò sữa Việt

Nam có khoảng 166.989 con, tổng sản lượng sữa tươi nguyên liệu đạt khoảng 381.740 tấn, tăng khoảng 10,5% so với năm 2011, đáp ứng khoảng

22% tổng lượng sữa tiêu dùng cho cả nước (Tổng Xuân Chinh, 2012). Giống bò sữa nuôi ở Việt Nam hiện nay chủ yếu là bò lai Holstein Frisian (HF) có tỷ máu HF từ 50-97,5%. Đàn bò sữa Hà Lan nhập vào Việt Nam tập trung ở cao nguyên Mộc Châu (Sơn La) và Đức Trọng (Lâm Đồng) là 2 địa phương có nhiều lợi thế cho phát triển chăn nuôi bò sữa. Để đáp ứng nhu cầu sử dụng sữa và các sản phẩm sữa ngày càng tăng của người dân, chính phủ đã giành những ưu tiên đáng kể cho các dự án nhập tinh và giống bò sữa cao sản làm nguồn lai tạo đàn bò sữa trong nước. Vì vậy, để đảm bảo chất lượng đàn bò sữa, công tác quản lý, tuyển chọn và lai tạo giống bò sữa là một trong những vấn đề rất cần thiết. Các phương pháp chọn giống truyền thống dựa trên chọn lọc kiểu hình đã thu được nhiều thành tựu đáng kể. Tuy nhiên, phương pháp này lại hạn chế đối với một số tính trạng khó xác định kiểu hình (kháng bệnh) hoặc chỉ biểu hiện ở giai đoạn trưởng thành (sinh sản, tiết sữa). Ứng dụng di truyền phân tử xác định các gen và các vùng nhiễm sắc thể (NST) chứa các locus gen liên kết, ảnh hưởng đến các tính trạng kinh tế nhằm hỗ trợ chọn lọc đã khắc phục được các trở ngại trên.

Ở bò, *PIT-1* (danh pháp chính thức: POU1F1) định vị trên NST 1, bao gồm 6 exon và 5 intron, mã hóa cho một chuỗi polypeptit chứa 291 axit amin (33 kD). Vị trí này tạo ra một nhóm gen liên kết bao gồm: *TGLA49-RM95-Pit1-TGLA57* (Moody et al., 1995). Protein *PIT-1* có vai trò trong việc kiểm soát sự phát triển bình thường của 3 loại tế bào thùy trước tuyến yên: lactotrop, somatotrop và thyrotroph; cũng như mức độ biểu hiện của các hormone thùy trước tuyến yên: PRL, GH (Nelson et al., 1988; Mangalam et al., 1989) và TSH- $\beta$  (Simmons et al., 1990; Steinfelder et al., 1991). Quá trình tổng hợp protein *PIT-1* bị ức chế sẽ làm giảm đáng kể sự biểu hiện của GH, PRL (McCormick et al., 1990), làm giảm sự gia tăng số lượng các tế bào somatotrop và lactotrop (Castrillo et al., 1991). Gen *PIT-1* được xác định là có ảnh hưởng đến trọng lượng cơ thể, tốc độ tăng trưởng (Renaville et al., 1997a; Carrijo et al., 2008) và tính trạng sản xuất sữa ở bò (Renaville et al., 1997b; De Mattos et al., 2004).

Trong cấu trúc của protein *PIT-1* có hai vùng cấu trúc đặc trưng khá quan trọng là POU-homeo (CDD: 28970) và POU-specific (CDD: 197673), chúng có vai trò chủ yếu trong việc giúp phân tử protein *PIT-1* liên kết với gen *GH* và *PRL* và thúc đẩy sự tăng cường sự tổng hợp hormone GH và PRL. Một phần của POU-homeo được mã hóa bởi các nucleotit trên exon 6. Vì vậy, trên thế giới có nhiều nghiên cứu đánh giá tương quan đa hình gen *PIT-1E6* với tính trạng năng suất, chất lượng sữa (Renaville et al., 1997, Dybus et al., 2004, Edris et al., 2009; Doosti et al., 2011). Đa hình di truyền exon 6 của *PIT-1* (*PIT-1E6*) trên bò đã được nghiên cứu bằng kỹ thuật PCR-RFLP (Woollard et al., 1994), đó là sự thay thế nucleotit A  $\rightarrow$  G (NM\_174579: c.1178A) và có liên quan đến tính trạng năng suất sữa ở bò HF (Renaville et al., 1997b). Renaville et al. (1997b), Zwierzchowski et al. (2002) nhận thấy các cá thể mang alen T của *PIT-1E6* có ưu thế hơn hẳn các cá thể mang alen G về sản lượng sữa và hàm lượng protein. Trái lại, nghiên cứu của Dybus et al. (2004), Heidari et al. (2012) và Edriss et al. (2009) cho thấy không có mối tương quan giữa SNP của *PIT-1E6* với tính trạng sản lượng sữa. Gần đây, một đột biến điểm khác (G  $\rightarrow$  A) trong exon 2 của gen *PIT-1* (*PIT-1 E2*) đã được phân tích bởi Pan et al. (2008).

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá mối tương quan di truyền giữa đa hình SNP thuộc exon 2 và 6 gen *PIT-1* với tính trạng năng suất sữa trên đàn bò cái giống HF đang được khai thác sữa ở công ty CP sữa Đà Lạt, Lâm Đồng.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Nguyên liệu

Mẫu mô tai của 53 cá thể bò cái giống Holstein Friesian thuần đang trong độ tuổi cho sữa và được nuôi tại trang trại sản xuất của Công ty cổ phần sữa Đà Lạt, Lâm Đồng. Các mẫu mô được bảo quản trong ethanol 100%, 4°C. Đồng thời các thông tin về tuổi, số lần khai thác sữa (từ 1-4 lần), năng suất sữa và số ngày vắt sữa của từng cá thể cũng được thu thập.

Kết quả nghiên cứu bước đầu về tương quan di truyền giữa gen *PIT-1* với năng suất và chu kỳ sữa ở bò Holstien friesian nuôi tại Lâm Đồng

## 2.2. Phương pháp

DNA hệ gen được tách chiết từ các mẫu mô tai theo các bước cơ bản: phân hủy bằng proteinaseK, chiết bằng phenol: chloroform và rửa DNA bằng ethanol. Phản ứng PCR (25 $\mu$ l) chứa các thành phần: 25 mM dNTP; 10 pM mỗi xuôi và ngược (trình tự ghi); 1U Dream Taq; 100 ng DNA mẫu và được thực hiện trên máy chu trình nhiệt (Mastercycler, Eppendorf). Hai đoạn gen *PIT-1E2*/ *PIT-1E6* được khuếch đại với các cặp mồi và chu kỳ nhiệt như trong bảng 1.

Sản phẩm PCR của đoạn gen *PIT-1 E2*/*PIT-1 E6* được ủ với *TaqI*/*HinfI* (Fermentas). Sản phẩm PCR-RFLP cho các băng DNA có kích thước phân tử như trong bảng 2.

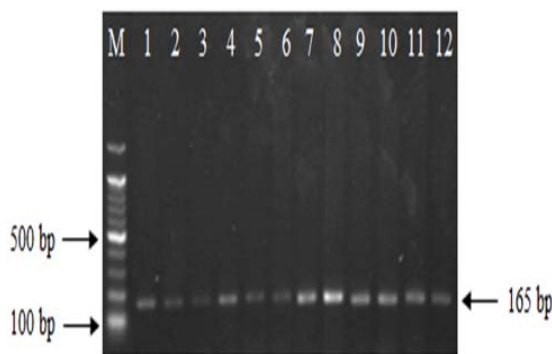
Kết quả phân tích kiểu gen sẽ được kết nối với dữ liệu về kiểu hình để phân tích mối tương quan đa hình di truyền gen *PIT-1* với các tính trạng năng suất sữa và số ngày cho sữa bằng mô hình tuyến tính của phần mềm thống kê Minitab 15.0 (Barbara et al., 1972).

**Bảng 1. Các cặp mồi sử dụng chạy PCR**

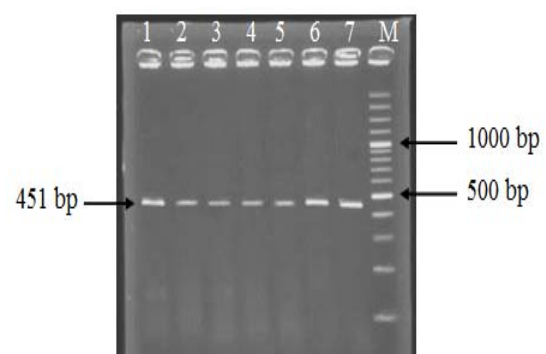
| Đoạn gen       | Trình tự mồi (5' - 3')                               | Kích thước sản phẩm (bp) | Nhiệt độ gắn mồi ( $^{\circ}$ C) | Tài liệu tham khảo   |
|----------------|------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------|----------------------|
| <i>Pit-1E2</i> | F: CTTACCAGTCCCGTCTACT<br>R: TTCTTACCTGCCATCACG      | 165                      | 50                               | Pan et al., 2008     |
| <i>Pit-1E6</i> | F: AAACCATCATCTCCCTTCTT<br>R: AATGTACAATGTGCCTTCTGAG | 451                      | 52                               | Wollard et al., 1994 |

**Bảng 2. Các băng DNA và kiểu gen tương ứng**

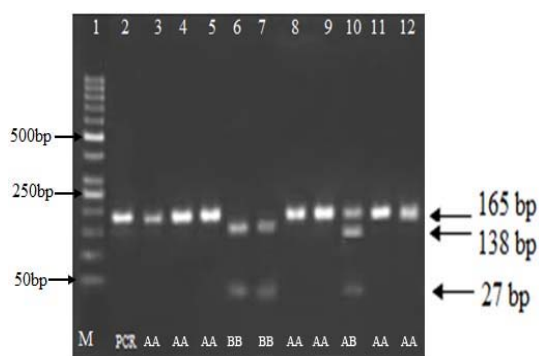
|                | Enzyme       | Nhiệt độ ủ enzyme      | Kích thước (bp)                  | Kiểu gen       |
|----------------|--------------|------------------------|----------------------------------|----------------|
| <i>PIT-1E2</i> | <i>TaqI</i>  | 65 $^{\circ}$ C, 4 giờ | 165<br>138/ 27<br>165/ 138/ 27   | AA<br>BB<br>AB |
| <i>PIT-1E6</i> | <i>HinfI</i> | 37 $^{\circ}$ C, 4 giờ | 451<br>244/ 207<br>451/ 244/ 207 | TT<br>GG<br>TG |



**Hình 1. Sản phẩm PCR của đoạn gen *PIT-1E2***  
(M: Thang DNA chuẩn 100bp (Fermentas);  
1 $\rightarrow$  12: Sản phẩm PCR kích thước 165bp)

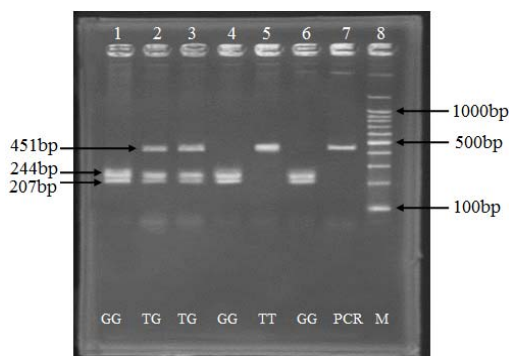


**Hình 2. Sản phẩm PCR của đoạn gen *PIT-1E6***  
(M: Thang DNA chuẩn 100bp (Fermentas);  
1 $\rightarrow$  7: Sản phẩm PCR kích thước 451bp)



**Hình 3. Sản phẩm cắt đoạn gen *PIT-1E2* bằng *TaqI***

1: Thang DNA chuẩn 50 bp (Fermentas)  
2: Sản phẩm PCR  
3, 4, 5, 8, 9, 11, 12: kiểu gen AA  
6, 7: kiểu gen BB; 10: kiểu gen AB



**Hình 4. Sản phẩm cắt đoạn gen *PIT-1E6* bằng *HinfI***

8: Thang DNA chuẩn 100 bp (Fermentas)  
1, 4, 6: kiểu gen GG; 2, 3: kiểu gen TG  
5: kiểu gen TT; 7: Sản phẩm PCR

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả khuếch đại 2 đoạn gen của *PIT-1* bằng PCR được trình bày ở hình 1 và 2. Sản phẩm PCR là một băng DNA đặc hiệu, rõ nét và có kích thước phân tử tương ứng với lý thuyết (hình 3). Sản phẩm cắt bằng enzyme cắt hạn chế là các băng rõ nét, đặc hiệu, có kích thước phân tử phù hợp với tính toán lý thuyết (Hình 4).

Kết quả phân tích kiểu gen/alen của *PIT-1E2* và *PIT-1E6* ở 53 cá thể bò HF được trình bày ở bảng 3. Đối với *PIT-1E2*, kiểu gen đồng hợp tử AA xuất hiện với tần số cao hơn cả (45,3%), kiểu gen AA và BB với tần số gần tương đương nhau (28,3% và 26,4%). Alen A và B xuất hiện với tần số không khác biệt nhiều (0,59 và 0,41). So với các nghiên cứu khác, alen A trong nghiên cứu này xuất hiện với tần số trội hơn (0,59) so với kết quả của Selvaggi and Dario (2011) ( $A = 0,24$ ), tần số alen A thấp khảo sát trên giống 7 giống bò nội Trung Quốc (0,125-0,315), trong khi đó không phát hiện được alen A trong 61 cá thể Holstein Trung Quốc (Pan et al., 2008).

Với *PIT-1E6*, kiểu gen TG xuất hiện với tần số trung bình (18,9%), kiểu gen TT có tần số xuất hiện rất thấp (7,5%), ngược lại, kiểu gen GG có tần số cao (73,6%). Vì vậy, tần số alen T

và G có sự chênh lệch lớn (0,17 và 0,83). Tần số alen T (0,17) trong nghiên cứu này gần giống kết quả nghiên cứu của Renavill et al. (1997) ( $T = 0,18$ ), Woollard et al. (1994) ( $T = 0,15$ ). Tần số này thấp hơn kết quả nghiên cứu của Doosti et al. (2011), Moody et al. (1995), Dybus et al. (2004) (lần lượt là 0,29; 0,26; 0,24). Sự chênh lệch giữa các kết quả nghiên cứu có thể do số lượng mẫu, nguồn gốc các quần thể bò khác nhau và có thể do tác động chọn lọc trong quá trình chăn nuôi.

Kết quả phân tích tương quan di truyền giữa kiểu gen *PIT-1E2* và *PIT-1E6* với năng suất sữa, số ngày cho sữa ở bò HF đang khai thác sữa được trình bày ở bảng 4. Tại exon 2 của *PIT-1* cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các cá thể mang các kiểu gen khác nhau với tính trạng năng suất sữa ( $P < 0,05$ ), trong đó bò có kiểu gen AA cho năng suất sữa trung bình (17,5 lít/ngày) cao nhất, hai kiểu gen AB và BB có năng suất sữa tương đương nhau (15,1 và 15,7 lít/ngày). Đối với tính trạng số ngày cho sữa, bò mang kiểu gen AA có số ngày cho sữa cao nhất (309,8 ngày) và kiểu gen AB cho số ngày cho sữa thấp hơn (216,2 ngày). Hệ số tương quan  $\rho = 0,306$  cho thấy mối tương quan giữa kiểu gen với số ngày cho sữa ở mức độ

**Bảng 3. Tần số phân bố kiểu gen/alen ở 2 locus**

| Gen     | Kiểu gen | Tần số kiểu gen |      | Tần số alen |
|---------|----------|-----------------|------|-------------|
|         |          | Số lượng (n=53) | %    |             |
| PIT-1E2 | AA       | 24              | 45,3 | f(A) = 0,59 |
|         | AB       | 15              | 28,3 | f(B) = 0,41 |
|         | BB       | 14              | 26,4 |             |
| PIT-1E6 | TT       | 4               | 7,5  | f(T) = 0,17 |
|         | TG       | 10              | 18,9 | f(G) = 0,83 |
|         | GG       | 39              | 73,6 |             |

**Bảng 4. Mối tương quan giữa các kiểu gen của PIT-1 với năng suất sữa và số ngày cho sữa**

| Gen     | Kiểu gen | Số lượng<br>(n = 53) | Năng suất sữa<br>(lít/ngày)<br>(Mean ± SD) | Giá trị p | $\rho$ | Số ngày vắt sữa<br>(Mean ± SD) | Giá trị p | $\rho$ |
|---------|----------|----------------------|--------------------------------------------|-----------|--------|--------------------------------|-----------|--------|
| PIT-1E2 | AA       | 24                   | 17,5 ± 2,95                                | 0,037     | 0,28   | 309,8 ± 90                     | 0,015     | 0,306  |
|         | AB       | 15                   | 15,1 ± 3,56                                |           |        | 216,2 ± 129,2                  |           |        |
|         | BB       | 14                   | 15,7 ± 2,16                                |           |        | 240,2 ± 82,5                   |           |        |
|         | TT       | 4                    | 16,5 ± 1,29                                |           |        | 317 ± 48,9                     |           |        |
| PIT-1E6 | TG       | 10                   | 16,2 ± 3,19                                | 0,987     | 0,001  | 228,8 ± 148                    | 0,35      | 0,114  |
|         | GG       | 39                   | 16,4 ± 3,26                                |           |        | 268,8 ± 98,9                   |           |        |

Ghi chú: Mean: giá trị trung bình; p: giá trị của mức ý nghĩa thống kê trong phân tích ANOVA; SD: độ lệch chuẩn;  $\rho$ : là hệ số tương quan giữa kiểu gen với kiểu hình

thấp. Cho đến nay, chưa có công trình nghiên cứu nào về sự tương quan đa hình gen giữa PIT-1E2 với tính trạng sản lượng sữa. Vì vậy, kết quả này đã cho thấy tiềm năng sử dụng đa hình PIT-1E2 trong chọn giống bò có năng suất cao ở tính trạng sản lượng sữa. Tuy nhiên, số lượng mẫu nghiên cứu còn hạn chế, vì thế nghiên cứu này vẫn đang tiến hành trên số lượng mẫu lớn hơn để đảm bảo tính tin cậy của kết quả nghiên cứu.

Đối với PIT-1E6, năng suất sữa giữa các kiểu gen TT, TG và GG (16,5; 16,3 và 16,4 lít/ngày) không có sự khác biệt đáng kể. Bò có kiểu gen TT cho số ngày vắt sữa cao nhất (317 ngày), bò mang kiểu gen TG có số ngày cho sữa thấp nhất (228,8 ngày). Trong nghiên cứu này nhận thấy không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa cá thể mang các kiểu gen khác nhau với cả tính trạng năng suất sữa và số ngày cho sữa. Khuynh hướng này cũng được thể hiện

trong nghiên cứu của Dybus et al. (2004), Heidari et al. (2012) và Edriss et al. (2009). Mặc dù những cá thể mang kiểu gen dị hợp có khả năng cho sữa cao hơn các cá thể bò mang kiểu gen đồng hợp nhưng Edriss et al. (2009) lại nhận thấy không có mối tương quan có ý nghĩa thống kê giữa kiểu gen và năng suất sữa. Trái với những kết quả trên, Renaville et al. (1997b); Zwierzchowski et al. (2002) nhận thấy các cá thể mang alen T của PIT-1E6 có ưu thế hơn hẳn các cá thể mang alen G về sản lượng sữa và hàm lượng protein nhưng lại kém ưu thế về hàm lượng chất béo trong sữa. Cá thể mang kiểu gen TG có ưu thế về cả số ngày cho sữa và sản lượng sữa (Zwierzchowski et al., 2002). Những thay đổi nucleotide trên exon của gen thường dẫn đến thay đổi chuỗi axit amin và do đó làm thay đổi protein tương ứng. Tuy nhiên, các tính trạng kinh tế hầu hết là đa gen - nhiều gen đóng góp

biểu hiện một tính trạng. Vì thế, các kết quả nghiên cứu có thể không đồng thuận nhau, do có sự tương tác giữa các gen tham gia vào quá trình biểu hiện tính trạng trên từng giống vật nuôi – với những đặc tính di truyền riêng, với các điều kiện nuôi dưỡng, sinh thái khác nhau.

Đây là nghiên cứu bước đầu về đa hình gen *PIT-1* và mối tương quan giữa đa hình gen *PIT-1* với năng suất và chu kỳ sữa ở bò HF trong nước. Ở bò, sản lượng sữa được tính bằng tổng lượng sữa thu được trong một chu kỳ sữa chuẩn là 305 ngày. Tuy nhiên, do một số nguyên nhân khách quan trong việc thu thập thông tin về năng suất sữa nên nghiên cứu này chưa thể đưa các số liệu năng suất sữa trung bình về chu kỳ sữa chuẩn (305 ngày). Khi tiến hành phân tích kết quả, chúng tôi sử dụng số liệu về tổng sản lượng sữa thu được từ ngày đầu tiên đến ngày cạn sữa tự nhiên của từng cá thể trong một kỳ khai thác sữa.

#### 4. KẾT LUẬN

Đã phân tích được các điểm đa hình đối với hai đoạn gen *PIT-1E2* và *PIT-1E6* bằng các enzyme cắt *TaqI*/*HinfI* trên 53 cá thể bò HF bằng phương pháp PCR-RFLP, cho kết quả tần số kiểu gen của *PIT-1E2*: 45,3% AA; 28,3% AB; 26,4% BB và tần số kiểu gen của *PIT-1E6*: 7,5% TT; 18,9% TG; 73,6% GG. Kết quả nghiên cứu ban đầu cho thấy có sự tương quan giữa đa hình gen *PIT-1E2* với năng suất và số ngày cho sữa ( $P < 0,05$ ) ở bò HF. Đồng thời, không phát hiện được sự sai khác nhau có ý nghĩa thống kê về năng suất sữa và số ngày cho sữa giữa các kiểu gen của *PIT-1E6* ở bò HF.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này nhận được sự hỗ trợ kinh phí của đề tài “Ứng dụng công nghệ cấy chuyển phôi bò sữa cao sản tại Tây Nguyên (TN3/C02), và đề tài nghiên cứu khoa học cấp Viện Công nghệ sinh học (CS13-04)”.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Barbara F. Ryan, Thomas A. Ryan, Jr., and Brian L. Joiner (1972). MINITAB statistical software.

- Carrijo SM., Alencar M.M., Toral F.L.B. (2008). Association of PIT-1 genotypes with growth traits in Canchim cattle. *Sci. Agr.* 65: 116-121.
- Castrillo J., Theill L.E., Karin M. (1991). Function of the homeodomain protein GHF1 in pituitary cell proliferation. *Science*. 253: 197-199.
- De Mattos K.K., Del Lama S.N., Martinez M.L., Freitas A.F. (2004). Association of *bGH* and *PIT-1* gene variants with milk production traits in dairy Gyr bulls. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 39: 147-150.
- Doosti A., Arshi A., Momeni B. (2011). Molecular study of PIT1 gene polymorphism in Holstein and Iranian native cattle. *African Journal of Agricultural Research*. 6(19): 4467-4470.
- Dybus A., Szatkowska I., Czerniawska-piatkowska E., Grzesiak W., Wojcik J., Rzewucka E., Zych S. (2004). PIT1-*HinfI* gene polymorphism and its associations with milk production traits in polish Black-and-White cattle. *Arch. Tierz.* 47: 557-563.
- Edriss MA., Vahid E., Rahmani H.R. (2009). Association of *PIT-1* gene polymorphism with birth weight, milk and reproduction traits in Isfahan Holstein cows. *Archiv Tierzucht*. 52 (4): 445-447.
- Heidari M., Azari M.A., Hasani S., Khanahmadi A., Zerehdaran S. (2012). Effect of Polymorphic Variants of GH, Pit-1, and  $\beta$ -LG Genes on Milk Production of Holstein Cows. *Russian Journal of Genetics*. 48 (4): 417-421.
- Mangalam HJ., Albert V.R., Ingraham H.A., Kapiloff M., Wilson L., Nelson C., Elsholtz H., Rosenfeld M.G. (1989). A pituitary POU-domain protein, Pit-1, activates both growth hormone and prolactin promoters transcriptionally. *Gene Dev.* 3: 946-958.
- McCormick A., Brady H., Theill L.E., Karin M. (1990). Regulations of the pituitary-specific homeobox gene GHF1 by cell autonomous and environmental cues. *Nature*. 345: 829-832.
- Moody D.E., Pomp D., Barendse W. (1995). Restriction fragment length polymorphism in amplification products of the bovine PIT1 gene and assignment of PIT1 to bovine chromosome 1. *Animal Genetics*. 26: 45-47.
- Nelson C., Albert V.R., Elsholtz H.P., Lu L.I., Rosenfeld M.G. (1988). Activation of cell-specific expression of rat growth hormone and prolactin gene by a common transcription factor. *Science*. 239: 1400-1405.
- Pan C., Lan X., Chen H., Guo Y., Shu J., Lei C., Wang X. (2008). A *TaqI* PCR-RFLP detecting a novel SNP in exon 2 of the Bovine POU1F1 gene. *Biochem. Genet.* 46: 424-432.
- Renaville R., Gengler N., Parmentier I., Mortiaux F., Massart S., Bertozzi C., Burny A., Portetelle D.

- (1997a). Pit-1 gene *HinfI* RFLP and growth traits in double-muscled Belgian Blue Cattle. *J. Anim. Sci.* 75 (Suppl.1): 146.
- Renaville R., N. Gengler, E. Vrech, A. Prandi, S. Massart, C. Corradini, C. Bertozzi, F. Mortiaux, A. Burny, D. Portetelle (1997b). Pit-1 gene polymorphism, milk yield and conformation traits for Italian Holstein-Friesian bulls. *J. Dairy Sci.* 80: 3431-3438.
- Selvaggi M., Dario C. (2011). Analysis of two *PIT-1* gene polymorphisms: Single nucleotide polymorphisms (SNPs) distribution patterns in Podolica cattle breed. *African Journal of Biotechnology*. 10 (55): 11360-11364.
- Simmons D.M., Voss J.W., Ingraham H.A., Holloway J.M, Broide R.S., Rosenfeld M.G., Swanson L.W. (1990). Pituitary cell phenotypes involve cell-specific *PIT-1* mRNA translation and synergistic interactions with other classes of transcription factors. *Gene Dev.* 4: 695-711.
- Steinfelder HJ., Hauser P., Nakayama M.G., Radovick S., McClaskey J.H., Taylor T., Weintraub B.D., Wondisford F.E. (1991). Thyrotropin-releasing hormone regulation of human TSH- $\beta$  expression: role of a pituitary-specific transcription factor (PIT-1/GHF-1) and potential interaction with a thyroid hormone-inhibitory element. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88: 3130-3134.
- Tổng Xuân Chinh (2012). Khảo sát, đánh giá tình hình sản xuất và thị trường sữa năm 2012, dự báo năm 2013. Cục Chăn nuôi.
- Woollard J., Schmitz C.B., Freeman A.E., Tuggle C.K. (1994). Rapid communication: *HinfI* polymorphism at the bovine Pit-1 locus. *J. Anim. Sci.* 72: 3267.
- Zwierzchowski L., Krzyzewski J., Strzalkowska N., Siadkowska E., Ryniewicz Z. (2002). Effects of polymorphism of growth hormone (GH), PIT-1, and leptin (LEP) genes, cow's age, lactation stage and somatic cell count on milk yield and composition of Polish Black-and-White cows. *Animal Science Papers and Reports.* 20: 213-227.