تعیین توالی بخش *HVS-I* از ناحیه *D-Loop* ژنوم میتوکندری جمعیتی از مرغ بومی مرندی و ترسیم رابطه فیلوژنی آن با سایر مرغان اهلی

فاطمه محمدی پسته بیگ [۱]، نصراله پیرانی [۲*]، جلیل شجاع [۳] و آرزو محمدهاشمی [۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۱۱/۱ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۸۸/۱۱/۱

۱ – دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۲ – دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

۳– استاد گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

٤– دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد

* مسئول مکاتبه: *E mail: napirany@gmail.com*

چکیده

نژاد های بومی مرغان اهلی در هر کشور به عنوان سرمایه ملی تلقی می شوند و حفظ آنها از نظر حفظ تنوع زیستی بسیار مهم می باشد. بررسی ژنوم میتوکندری در یک نژاد و مقایسه آن با سایر نژادها می تواند شاخص مناسبی از میزان تنوع موجود در آن جمعیت را ارائه دهد. این تحقیق به منظور تعیین توالی بخش *HVS-I* از ناحیه *D-loop* ژنوم میتوکندری مرغ مرندی ایران انجام گرفت. استخراج *DNA* از ۱۵ قطعه مرغ خالص مرندی که به طور تصادفی انتخاب شده بودند، انجام شد و ناحیه *HVS-I* با استفاده از آغازگرهای اختصاصی تکثیر و قطعات تکثیر شده پس از کلون کردن توالی یابی شدند. از ۱۵ نمونه اولیه در نهایت ۱۰ توالی منفرد و یک توالی کلی بدست آمد. از تجزیه و تحلیل توالی های بدست آمده ٦ هاپلوتیپ مشخص و توالی نمونه ها در پایگاه اطلاعاتی *NCBI* و با کدهای دسترسی - *GU481096* *GU481104* ثبت شدند. پس از اخذ توالی های مشابه ژنوم میتوکندری دیگر نژادهای مرغ موجود در بانک جهانی ژن، درخت فیلوژنی با استفاده از توالی کلی بدست آمده ترسیم شد. نتایج فیلوژنی مشخص کرد که مرغان بومی مرندی ایران با مرغ بومی کشور آذربایجان، پلیموت راک پر خط دار، لگهورن سفید، مرغ ابریشمی و مرغ جنگلی خاکستری (سونراتی) نزدیکی بیشتری دارد که این امر ممکن است به دلیل نزدیکی جغرافیایی زیستگاه نژاد مرندی و بومی کشور آذربایجان و همچنین مشابهت ژنتیکی مرغ مرندی ایران به نژادهای مدیترانه ای باشد.

واژه‌های کلیدی: ژنوم میتوکندری، فیلوژنی، مرغ بومی مرندی، *D-loop*

Archive of SID

www.SID.ir

Determination the mtDNA D-loop Sequence in Marandi Native Chicken Population and Its Phylogenic Relationships with Other Breeds

*F Mohammadipestebik [1], N Pirany[*2] J Shodja[3] and A Mohammadhashemi[4]*

Received: 21 January, 2009 Accepted: 21 January, 2010
[1]Former MSc Student, Dept. of Animal Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2]Assosiate Professor, Department of Animal Science, University of shahrekord , Shahrekord, Iran
[3]Professor, Department of Animal Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[4]PhD Student, Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashad, Iran
[*]Corresponding Author Email: napirany@gmail.com

Abstract
Native chicken breeds are national investment and conservation of these populations is very important from biodiversity aspects. Studying mitochondrial genome in one breed and comparing it with other breeds can give useful information about genetic diversity in that population. This study carried out for determination of mitochondrial HVS-I sequence in Marandi native chicken. DNA was extracted from 15 random birds and HVS-I region was amplified using specific primers and then sequenced after cloning. From 15 primary sequences, 10 were sequenced properly and one consensus sequence was obtained. In studied population 6 haplotypes were observed and submitted to gene bank (NCBI) under accession numbers of GU481096-GU481104. The phylogenic tree was drawn with consensus sequence of Mazandarani breed and other similar sequences of different chicken breeds obtained from gene bank. In the phylogenic tree, the Marandi breed was clustered with Azarbayjan native, white Leghorn, barred plymoth Rock, Silky and Sonerati breeds. Then, it can be concluded that Marandi breed has genetic similarities with some commercially productive chicken breeds.

Key words: *D-loop, Marandi native chicken, mtDNA, phylogeny*

Archive of SID

مقدمه

از اوایل قرن بیستم جمعیت جهان روندی رو به افزایش داشته و تأمین نیازهای خوراکی به خصوص پروتئین حیوانی از چالش های اساسی در کشورهای در حال توسعه می باشد. استفاده از مرغان بومی به منظور تهیه پروتئین حیوانی در روستاهای کشورمان معمول است و از نظر اقتصادی بسیار به صرفه می باشد زیرا نگهداری آنها در شرایط فوق با هزینه و سرمایه بسیار پایینی در مقایسه با نژادهای تجاری انجام می گیرد. از طرفی نژادهای بومی از ذخایر مهم ژنتیکی به شمار می روند و از این نظر به عنوان سرمایه های ژنتیکی ملی مطرح هستند. استفاده از طیور بومی به عنوان جمعیت مولد ژنتیکی پایه در برنامه های اصلاح نژادی طیور کشور دارای مزایای زیادی است و شناخت دقیق تر و کسب اطلاعات بیشتر در مورد آنها به جهت حفظ این ذخایر ژنتیکی ضروری به نظر می رسد. یکی از راههای شناسایی این نژادها استفاده از تکنیک های مولکولی به خصوص استفاده از ژنوم میتوکندری (*mtDNA*) است. از مزایای *mtDNA* می توان به نرخ بالای جهش در حدود ۱۰ برابر بیشتر از

www.SID.ir

DNA ی هسته ای (کیم و همکاران ۲۰۰۳ و کلمبو و همکاران ۲۰۰٤) داشتن نواحی حفاظت نشده ای که هیچ پروتئینی را کد نمی کنند (مانند ناحیه بسیار متغیر-*D loop*[1]) و امکان تکثیر با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و توالی یابی نواحی غیر کد کننده و نواحی کد کننده (سلطانا و مانن ۲۰۰٤) اشاره نمود. اندازه عمومی آن در اکثر مهره داران حدود ۱٦ کیلو جفت باز (پیرانی و همکاران ۱۳۸۸). در گونه های جانوری ژنوم میتوکندریایی ۳۷ ژن را کد میکند که شامل ۱۳ ژن کد کننده زنجیره تنفسی، ۲۲ ژ کد کننده *tRNA* و ۲ ژن کد کننده *rRNA* میباشد. کد کردن *tRNA* و *rRNA* نشان دهنده سنتز پروتئین در میتوکندری است (والاس ۱۹۹۲) امروزه توالی یابی بخش های مختلف *mtDNA* جهت تعیین تنوع ژنتیکی و شناسایی منشا نژادهای مختلف به یکی از کاربردی ترین روش ها در بررسی های تنوع زیستی و ارزیابی بین گونه ها و نژادها تبدل شده است که اساس اینگونه تحقیقات بر پایه استخراج *DNA*، خالص سازی محصولات *PCR* و توالی یابی است . بررسی شباهت توالی ها به کمک تعیین توالی کل ژنوم به پیش بینی محل و عملکرد نواحی کد کننده پروتئین ها و نواحی تنظیم رونویسی و دیگر نواحی در *DNA* ژنومی منجر خواهد شد (بانک جهانی ژن[2]). ناحیه کنترلی[3] *D-loop* به سه ناحیه کنترلی کاملا مشخص تقسیم می شود. ناحیه کنترل *I*[4] (*HVS-I*) در انتهای ′۳، ناحیه کنترل *III* (*HVS-II*) در انتهای ′٥ و ناحیه کنترل *II* (توالی حفاظت شده[5]) در بین دو ناحیه *I* و *III* فرار دارند. نواحی کنترل *I* و *III* دارای بالاترین میزان تغییرات نوکلئوتیدی در افراد مختلف هستند و به خاطر تکامل سریع، مطالعه توالی این نواحی در بررسی تنوع ژنتیکی و ارزیابی روابط میان گونه ها بسیار ارزشمند است (سلطانا و مانن ۲۰۰٤). تقریبا تمام بیماری ها با منشا نقص در میتوکندری، به نحوی با اختلالات در متابولیسم اکسیداتیو و تولید *ATP* مرتبط هستند. بیماریهایی نظیر چاقی، اختلالات عصبی، مرگ سلولی نکروزی، بیماریهای سیستم اعصاب مرکزی مانند *MELAS*[6]، بیماریهای عضلانی مانند پارالیزی عضلات خارجی چشم، بیماری دیستونی سندروم کرن سایر (*KSS*)، سندروم پیرسون، بیماری ارثی نوروپاتی عصب بینایی، بیماری دیابت و پیری ممکن است در اثر انواع جهش و یا عملکرد غیر طبیعی خود میتوکندری اتفاق بیفتند (روزوودوسکا و همکاران ۲۰۰۰). اولین توالی کامل ژنوم میتوکندری مرغ به طول ۱٦۷۷٥ جفت باز و طول قطعات ژنی آن از قبیل ناحیه *D-loop* به طول ۱۲۲۷ توسط دستجاردین و مورایز (۱۹۹۰) با کد دسترسی *X52392* گزارش شد. سپس فومی هیتو و همکاران (۱۹۹٤) با مطالعه ناحیه کنترل غیر کد کننده *mtDNA* پرندگان مختلف به روش *RFLP* زیر گونه مرغ جنگلی قرمز (گالوس گالوس) را به عنوان جد مادری تمام نژادهای اهلی مرغ معرفی کردند. بخش های مختلف *mtDNA* نیز جهت تعیین تنوع ژنتیکی و شناسایی منشاء نژادها در پرنده گان مختلف توالی یابی شده است. توالی یابی ناحیه *D-Loop* در لک لک سفید[7] به طول ۱۲٤۸ جفت باز از تعداد ۲٦ لک لک از کشورهای ژاپن، چین و روسیه و شناسایی ۹ هاپلوتیپ بین آنها (یاماموتا و همکاران ۲۰۰۰)، توالی یابی کل *mtDNA* بلدرچین ژاپنی به طول ۱٦٦۹۷ جفت باز و تعیین رابطه فیلوژنتیک این گونه با پنج گونه دیگر (نیشی بوری و همکاران ۲۰۰۱) از جمله این تحقیقات است. در مطالعه دیگری توالی ناحیه *D-Loop* میتوکندری به طول ۱۲۳۲-۱۲۳۱ در ۲۰ نژاد بومی ژاپنی همچنین لگهورن سفید، ردآیلندرد و مرغهای بومی اندونزیایی بررسی و روابط فیلوژنتیک و مسیر و منشأ

[1] *Displacement- Loop*
[2] *NCBI*
[3] *Control region (CR)*
[4] *Hyper variable segment I, II, III*
[5] *Conserved sequence*
[6] *Mitochondrial encephalmyopathy lactic acidosis and stroke like episodes*
[7] *Oriental white stork*

Archive of SID

www.SID.ir

مادریشان مورد بررسی قرار گرفتند و ٤٢ هاپلوتیپ و ۷ هاپلوگروه (A تا G) مشخص شد و نتیجه گرفته شد که بعضی نژادها از داخل ژاپن نشأت نگرفته اند و مرغهای کره ای و چینی نشأت گرفته از جنوب شرقی آسیا پایه مرغهای بومی ژاپنی را تشکیل داده اند. آنها نتیجه گرفتند که بیشتر مرغهای بومی ژاپنی امروزه از سه نژاد جیدوری، شوکوکو[1] و شمو[2] مشتق شده اند (اکا و همکاران ۲۰۰۷). هدف از این تحقیق تعیین و بررسی توالی نوکلئوتیدهای بخش *HVS-I* از ناحیه *D-loop* *mtDNA* مرغ بومی مرندی ایران است تا اطلاعاتی از وضعیت توالی این ناحیه از این نژاد بدست آورده و ضمن مقایسه با سایر نژادها توالی بدست آمده برای این توده بومی در بانک جهانی ژن ثبت شود.

مواد و روش ها

معرفی مرغ مرندی

نژاد مرندی بیشتر در منطقه آذربایجان به ویژه شهرستان مرند پراکنده است و از نظر رنگ پر و بال عموماً دارای گونه سیاه و سفید می باشند (شکل۱). از لحاظ ظاهری دارای تاج ساده، جثه عمیق، طول متوسط و بدن جمع و جور هستند. سن بلوغ در این نژاد ۲۰ هفتگی، وزن بلوغ در مرغ ۱۳۰۰ – ۱۲۰۰ گرم و در خروس ۱۵۵۰ – ۱٤۵۰ گرم، وزن مرغها در پایان دوره تولید حدوداً ۱۸۰۰ گرم و وزن خروسها ۲٦۰۰ گرم، متوسط وزن تخم مرغ حدود ٤۸ گرم و میزان تخم گذاری سالیانه ۸۰ عدد است (توکلیان، ۱۳۷۸).

شکل۱- الف) خروس سیاه مرندی، ب) مرغ سفید مرندی.

محل آزمایش، نحوه جمع آوری نمونه های خون و استخراج *DNA*

نمونه های مورد نیاز از موسسه علوم دامی حیدرآباد کرج جمع آوری شدند و مراحل مختلف آزمایشگاهی در آزمایشگاه مولکولی گروه علوم دامی دانشگاه تبریز صورت گرفت. جهت انجام این تحقیق تعداد ۱۵ قطعه مرغ بومی مرندی به طور تصادفی انتخاب شدند. استخراج *DNA* توسط روش بیلز و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد. کمیت *DNA* استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و کیفیت آن با الکتروفورز روی ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین شد.

انتخاب پرایمرها و واکنش زنجیره ای پلیمراز

در این تحقیق از دو پرایمر اختصاصی مستقیم و معکوس بخش *HVS-I* از ناحیه *D-loop* ژنوم میتوکندری گونه مرغ که ۲۰ نوکلئوتید طول داشتند استفاده شد. با استفاده از پرایمرهای فوق قطعه ای به طول ٦٦۰ جفت باز از ناحیه مورد نظر تکثیر شد. پرایمر مستقیم در فاصله ١٦٧٧۵-١٦٧٣٩ و پرایمر معکوس ٦٦٨-٦٤٩ از ژنوم کامل میتوکندری متصل شدند (دستجاردین و مورایس ۱۹۹۰). توالی دو پرایمر به شرح زیر بود.

F (5'-GGCTTGAAAAGCCATTGTTG-3')
R (5'-CCCCAAAAAGAGAAGGAACC-3')

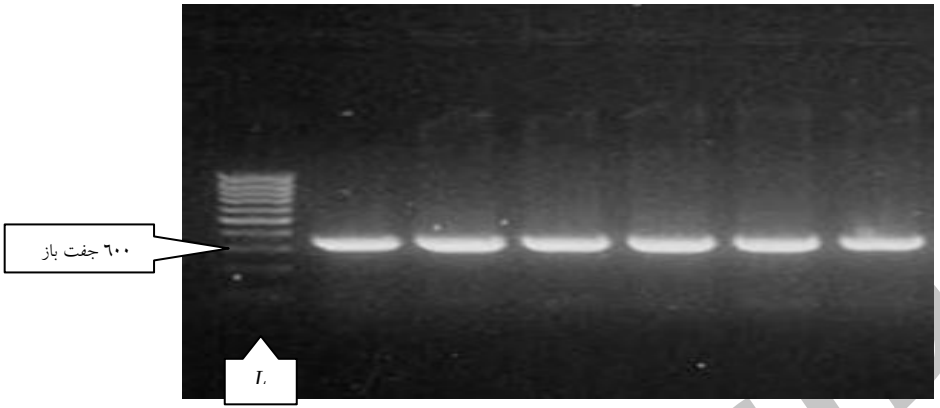
واکنش زنجیره ای پلیمراز به حجم ۲۰ میکرولیتر شامل ۵۰ نانوگرم *DNA* ژنومی، ۱/۵ میلی مولار$MgCl_2$، ۰/۲ میلی مولار از مخلوط *dNTP*، ۷ پیکومول از هر کدام از پرایمرهای مستقیم و معکوس، بافر یک برابر *(۱x) PCR*، یک واحد آنزیم *Taq DNA* پلیمراز بود. برنامه حرارتی شامل دمای واسرشته شدن اولیه ٩٤ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه، ۳۰ چرخه دمایی با دمای واسرشت ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ٤۵

[1] *Shokoku*
[2] *Shamo*

Archive of SID

www.SID.ir

ثانیه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۹۰ ثانیه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. برای اطمینان از تکثیر قطعه مورد نظر، نمونه ها و *DNA* اندازه روی ژل آگارز با غلظت ۱/۵ ٪ الکتروفورز شدند (شکل ۲).



شکل ۲- قطعه ۶۵۵ جفت بازی حاصل از الکتروفورز محصولات *PCR* بر روی ژل آگارز (*M* : *DNA* اندازه ۱۰۰*bp*).

تعیین توالی

جهت افزایش دقت توالی ها، محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در وکتور *M13* که یک وکتور جهانی تعیین توالی می باشد کلون شده که سپس ناحیه کلون شده در هنگام تعیین توالی (ماکروژن آلمان) جهت جاگذاری نوکلئوتیدهای فلورسنس دار با پرایمرهای اختصاصی زیر تکثیر شد.

M13-F (5'-GTAAAACGACGGCCAG-3')
M13-R(5'-CAGGAAACAGCTATGAC-3')

تجزیه و تحلیل توالی ها

جهت تجزیه و تحلیل توالی های بدست آمده از برنامه های نرم افزاری مختلفی استفاده شد. پس از برگرداندن توالی های حاصل از پرایمر معکوس و همردیف کردن توالی های به دست آمده، نوکلئوتیدهای جایگزین، حذف و یا اضافه شده تعیین و هاپلوتیپ ها توسط برنامه *MEGA 4* (تامورا و همکاران ۲۰۰۷) مشخص شدند. سپس توالی های هاپلوتیپ از زیر همچینی و مرتب کردن آنها با استفاده از نرم افزار *7 SEQMAN* (سوایندل و پلسترر ۱۹۹۷) بدست آمد و با برنامه *Sequin* در پایگاه اطلاعاتی *NCBI* ثبت گردید. سپس توالی‌های کلی *D-loop*[1] مرغ مرندی با توالی این ناحیه در نژاد و سویه های مختلف مرغ اهلی که در پایگاه *NCBI* ثبت شده بودند توسط برنامه *CLUSTAL W*(تامپسون و هیجین ۱۹۹۴) همردیف شدند. نمودار درختی نمونه های مورد مطالعه و همچنین درخت فیلوژنی توالی های همردیف شده با استفاده از برنامه *BioEdit* (هال ۱۹۹۹) و با استفاده از رویه *NJ*[2] بر پایه *ML*[3] انجام شد.

نتایج و بحث

پس از بررسی توالی های حاصله، توالی حاصل از ۱۰ نمونه قابل قبول بود و مابقی به علت هتروپلاسمی مورد استفاده قرار نگرفتند. از توالی های بدست امده تعداد ۶۵۵ نوکلئوتید قابل شناسایی بودند که از این میان ۱۸ جایگاه *SNP* مشاهده شد (جدول ۱). این تغییرات به طور عمده از نوکلئوتید شماره ۱۳۳ تا ۴۴۶ مشاهده شدند. با توجه به جدول ۱به طور کلی در نمونه های مورد بررسی ۶ هاپلوتیپ مشخص شدند زیرا برخی از نمونه ها به عنوان مثال (۲ و ۳)، (۴ و ۶)،

[1] *Consensus*
[2] *Neighbor- Joining*
[3] *Maximum Likelihood*

Archive of SID

www.SID.ir

(۷ و ۹) و (۸ و ۱۰) در تمام جایگاههای بازی این ناحیه با هم مشابه بودند.

جدول ۱- *SNP* و هاپلوتیپ های به دست آمده برای نمونه های مختلف مرغ مرندی

نمونه	هاپلوتیپ	موقعیت *SN*																		
		۱۳۳	۱۶۷	۲۰۱	۲۱۷	۲۲۲	۲۳۵	۲۵۲	۲۶۲	۲۶۹	۲۷۱	۲۷۱	۲۸۱	۳۰۶	۳۱۰	۳۶۲	۳۵۵	۴۱۷	۴۳۳
Marandi-1	۱	*T*	*C*	*T*	*T*	*A*	*T*	*G*	*T*	*A*	*T*	*C*	*A*	*T*	*C*	*A*	*T*	*C*	*C*
Marandi-2, 3	۲	.	*T*	*C*	.	.	*C*	.	*C*	.	*C*	*T*	*G*	*C*	*T*	.	.	.	.
Marandi-4, 6	۳	.	*T*	*C*	*C*	.	*C*	.	*C*	.	*C*	*T*	.	.	*T*	.	.	.	*T*
Marandi-5	۴	.	*T*	*C*	*C*	.	*C*	*A*	*C*	.	*C*	*T*	.	.	*T*	*G*	.	.	*T*
Marandi-7, 9	۵	.	*T*	*C*	*C*	.	*C*	.	*C*	.	*C*	*T*	.	.	*T*	.	.	.	*T*
Marandi-8, 10	۶	*C*	*T*	*C*	*C*	*G*	*C*	.	*C*	*C*	*C*	*T*	.	.	*T*	.	*C*	*A*	*T*

توالی نهایی هر کدام از نمونه ها به طول ۶۵۵ در بانک جهانی ژن با شماره های دسترسی *GU481096*، *GU481097*، *GU481098*، *GU481099*، *GU481100*، *GU481101*، *GU481102*، *GU481103*، *GU481104* و *GU481105* ثبت شدند. سپس توالی کلی نژاد مرغ مرندی با استفاده از هر کدام از هاپلوتیپ ها تعیین شد. همانطور که در جدول۲ مشاهده می شود ترکیب و درصد نوکلئوتیدی یک رشته از این توالی به طور میانگین در تمام نمونه ها شامل ۱۷۳ نوکلئوتید *A* (۲۶/۴۱ درصد)، ۱۷۵ نوکلئوتید *C* (۲۶/۷۱درصد)، ۸۸ نوکلئوتید *G* (۱۳/۴۳ درصد) و ۲۱۹ نوکلئوتید *T* (۳۳/۴۳درصد) بود. نسبت و درصد نوکلوتیدها در توالی تک رشته ناحیه *HVS-I* توالی کلی مرغ مرندی به طول ۶۵۵ نوکلئوتید به نسبت و درصد نوکلوتیدها در این ناحیه از *mtDNA* مرغ اهلی (*Gallus gallus*) ثبت شده توسط دسجاردین و موراید (۱۹۹۰) که به عنوان اجداد مرغان اهلی امروزی مطرح می باشند، بسیار نزدیک است. مقایسه آماری تفاوت تعداد نوکلئوتیدها در مرغ مرندی و مرغ اهلی در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون کی-دو معنی دار نبود.

جدول ۲- مقایسه تعداد (درصد) نوکلئوتیدهای ناحیه کنترل مرغ مرندی با ترکیب نوکلئوتیدهای ثبت شده برای *Gallus gallus* (دسجاردین و موراید، ۱۹۹۰).

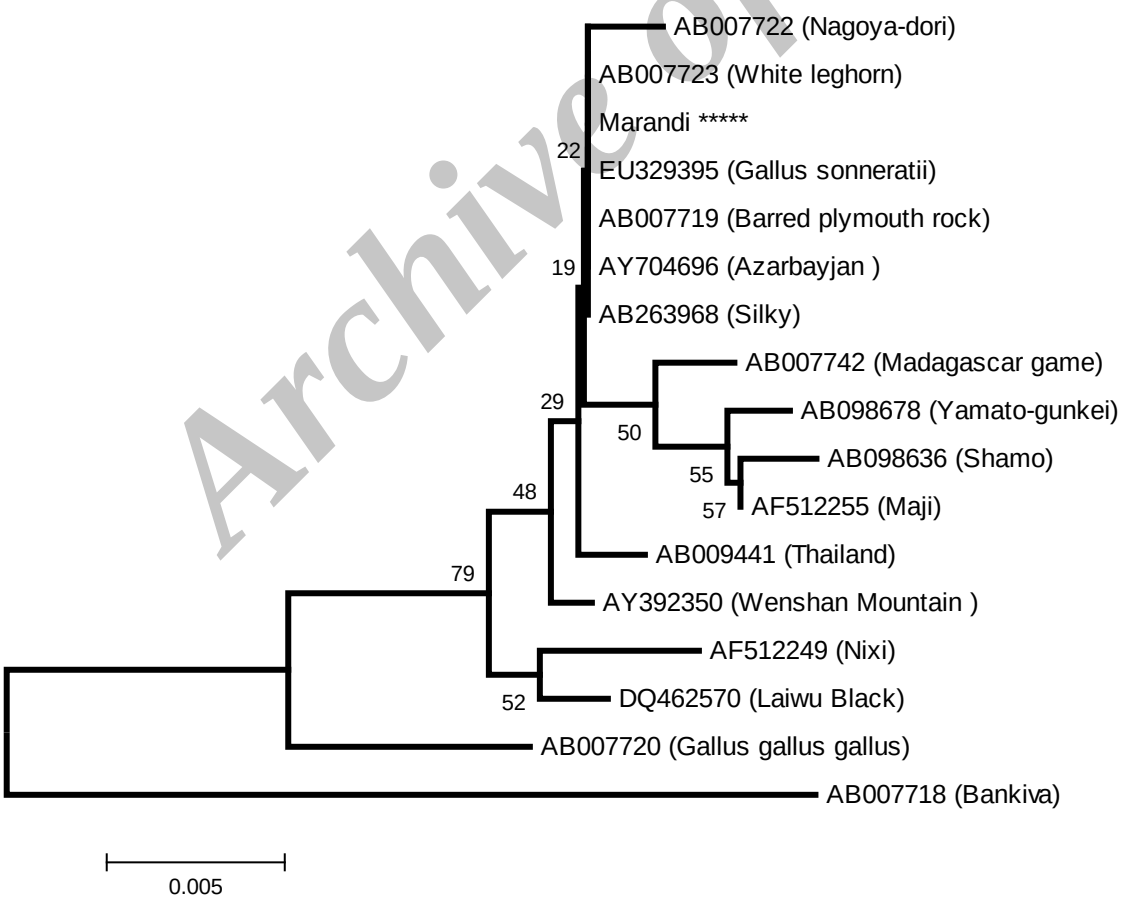
نژاد مرغ	نوع نوکلئوتید *			
	A	***G***	***C***	***T***
مرغ مرندی	۱۷۳ (۲۶/۴۱)	۸۸(۱۳/۴۳)	۱۷۵(۲۶/۷۱)	۲۱۹(۳۳/۴۳)
مرغ اهلی	۱۷۵(۲۶/۷)	۸۷(۱۳/۳)	۱۷۲ (۲۶/۳)	۲۲۱(۳۳/۷)

* غیر معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد توسط آزمون کی-دو

Archive of SID

www.SID.ir

شکل۳ نمودار فیلوژنی رسم شده توالی کلی بخش *HVS-I* ازناحیه *D-loop* مرغ مرندی و توالی های مشابه از ۱۶ نژاد مرغ موجود در بانک جهانی ژن به همراه کد دسترسی آنها را نشان می دهد. در این آنالیز دو توالی از مرغ جنگلی قرمز (*Gallus gallus gallus*) و *Gallus gallus Bankiva* با کد های دسترسی *AB007720* و *AB007718* به عنوان گروه غیر مرتبط آورده شده است (ایلری ۲۰۰۶). همانطور که در شکل مشخص است توالی این ناحیه در مرغ مرندی با مرغ بومی آذربایجان، پلیموتراک پر خط دار، لگهورن سفید، مرغ ابریشمی و مرغ جنگلی خاکستری (سونراتی) نزدیکی بیشتری دارد که امر ممکن است به دلیل نزدیکی جغرافیایی ژیستگاه نژاد مرندی و بومی آذربایجان و همچنین مشابهت ژنتیکی مرغ مرندی ایران به نژادهای مدیترانه ای باشد. در تحقیقات سایر محققین نیز چنین تشابهاتی وجود دارد مثلاً فومی هیتو و همکاران (۱۹۹٤) با مطالعه ناحیه کنترل غیر کد کننده *mtDNA* پرندگان مختلف به روش *RFLP* زیر گونه مرغ جنگلی قرمز (گالوس گالوس) را به عنوان جد مادری تمام نژادهای اهلی مرغ معرفی کردند. و یا اینکه نیشی بوری و همکاران (۲۰۰۱) در مطالعه ای که به منظور بررسی منشأ مادری و تعیین روابط فیلوژنتیک ۲۰ نژاد بومی ژاپنی و مرغهای بومی اندونزیایی انجام دادند نتیجه گرفتند که بعضی نژادهای منتسب به ژاپن از داخل ژاپن نشأت نگرفته اند و نژادهای سایر کشورها پایه مرغهای بومی ژاپنی را تشکیل داده اند.



شکل۳- نمودار فیلوژنی (نمودار درختی *N-J*) توالی کلی مرغ مرندی و برخی نژادهای مرغ موجود در بانک جهانی ژن به همراه کد دسترسی آنها (اعداد روی گره ها مربوط به درصد مشابهت درون گروهی است).***** توالی کلی مرغ مرندی بدست آمده از هاپلوتیپ ها

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه گیری کلی

استفاده از توالی یابی بخش *HVS-I* از ناحیه *D-loop* ژنوم میتوکندری می تواند به عنوان شاخص مناسبی جهت شناسایی نژادها به شمار رود. تشکیل بانک اطلاعات نژادهای بومی خصوصا در مورد نژادهایی که در معرض خطر انقراض قرار دارند ضروری می نماید. همچنین ثبت توالی به دست آمده قدمی موثر برای شناساندن این نوع نژاد ها به متخصصین و دست اندرکاران اصلاح نژاد در سطوح جهانی است. مرغ مرندی ایران نژادی بومی و در حال انقراض است که با توجه به شباهت ژنتیکی با نژادهای تجاری، بررسی های بیشتر و سرمایه گذاری در جهت استفاده از آن به عنوان نژاد پایه به رفع خطر انقراض این نژاد و همچنین افزایش قابلیت های طیور بومی مورد استفاده در روستا ها منجر خواهد شد. منشا مشترک این نژاد با نژاد های مدیترانه ای که عموماً دارای خصوصیات تخمگذاری خوبی هستند می تواند گویای توانایی های این نژاد برای پرورش به منظور تخمگذاری باشد از طرفی سازگاری با شرایط بومی و مقاومت به بیماری های منطقه ای نیز از مزایای این نژاد می باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می دانند تا از همکاری مسئولین محترم مرکز تحقیقات علوم دامی کشور بخاطر در اختیار گذاشتن نمونه های خون جهت اجرای پژوهش حاضر تشکر و قدردانی نمایند.

منابع مورد استفاده

پیرانی ن، محمد هاشمی ا، علیجانی ص، رضازاده گلی ر و قنبری ص، ۱۳۸۸. تجزیه و تحلیل مولکولی جمعیتی از مرغ بومی مازندران با استفاده از توالی ناحیه ژنوم میتوکندری. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، دوره ۱ شماره ۲ صفحات ۵۳ تا ٦٥.

توکلیان ج، ۱۳۷۸. نگرشی بر ذخائر ژنتیکی دام و طیور بومی ایران. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، ٤٥١ صفحه.

Bailes SM, Devers JJ, Kirby JD and Rhoads DD, 2007. An expensive, simple protocol for DNA isolation from blood for high-throughput genotyping by polymerase chain reaction or restriction endonuclease digestion. Poultry Science 86: 102- 106.

Colombo F, Marchisio E, Pizzini A and Cantoni C, 2002. Identification of the goose species (Anser ancer) in Italian mortara salami by DNA sequencing and a polymerase chain reaction with an original primer pair. Journal of Meat Science 61: 261-294.

Desjardins P and Morais R, 1990. Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome: A novel gene order in higher vertebrates. Journal of Molecular Biology 212: 599-634.

Froman DP and Kirby JD, 2005. Sperm Mobility: Phenotype in Roosters (Gallus domesticus) Determined by Mitochondrial Function. Biology of Reproduction 72: 562-567.

Fumihito A, Miyake T, Sumi S, Takada M, Ohno S and Kondo N, 1994. One subspecies of the red Jungle fowl (Gallus gallus gallus) suffices as the matriarchic ancestor of all domestic breeds. National Academy of Sciences of the United States of America. 91: 12505-12509.

Archive of SID

www.SID.ir

Hall TA, 1999. BioEdit: a user- friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series 4: 95-98.

http:// www. Ncbi. Nlm. Nih. Gov.

ILRI. 2006. Safe guarding livestock diversity. The time is now ILRI Annual report. 108

Jazin E, Soodyall H, Jalonen P, Lindholm E, Stoneking M and Gyllensten U, 1998. Mitocondrial mutation rate revisited: hot spots and polymorphism. Nature Genetics 18:109-110.

Kim KH and Lee JH, 2002. Phylogenic relationships of Asian and European pig breed determined by mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism. Animal Genetic 33:19-25.

Nishibori M, Hanazono M, Yamamoto Y, Tsudzuki M and Yasue, H. 2003. Complete nucleotide sequence of mitochondrial DNA in White Leghorn and White Plymouth Rock chickens. Animal Science Journal 74: 437-439.

Nishibori M, Hanazono M, Yamamoto Y, Tsudzuki M and Yasue H, 2003. Complete nucleotide sequence of mitochondrial DNA in chickens, White Leghorn and White Plymouth Rock. Animal Science Journal 74: 437-439.

Nishibori M, Hayashi T, Tsudzuki M, Yamamoto Y and Yasue H, 2001. Complete sequence of the Japanese quail (Coturnix Japonica) mitochondrial genome and its genetic relationship with related species. Animal Genetics 32: 380-385.

Oka T, Ino Y, Nomura K, Kawashima S, Kuwayama T, Hanada H, Amano T, Takada M, Takahata N, Hayashi Y and Akishinonomiya F, 2007. Analysis of mtDNA sequences shows Japanese native chickens have multiple origins. Animal Genetics 38: 287-293.

Rozwodoska M, Drewa G, Zbigniewski Z, 2000. Mitochondrial diseases. Medical Science Monitor 6: 817-822.

Swindell SR and Plasterer TN, 1997. SEQMAN. Methods in Molecular Biology. 70: 75-89.

Sultana S and Mannen H, 2004. Polymorphism and evolutionary profile of mitochondrial DNA control region inferred from the sequences of Pakistani goats. Animal Science Journal 75: 303-309.

Thompson JD, Higgins DG and Gibson TJ, 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research 22: 4673-4680.

Tamura K, Dudley J, Nei M and Kumar S, 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution 24: 1596-1599.

Yamamoto Y, Murata K, Matsuda H, Hosoda T, Tamura K and Furuyama J I, 2000. Determination of the complete nucleotide sequence and haplotypes in the D-loop region of the mitochondrial genome in the Oriental white stork, Ciconia boyciana. Genes Genetics System 75: 25-32.

Wenink PW, Baker A J and Tilanus MG J, 1994. Mitochondrial control-region sequences in two Shorebird species, the Turnstone and the Dunlin, and their utility in population genetic studies. Molecular Biology and Evolution 11: 22-31.

Wallce DC, 1992. Mitochondrial genetics aparadigm for aging and degenertive diseases. Science 256: 628-632.

Archive of SID

www.SID.ir