شناسایی چند شکلی های ناحیه اینترون ۱ ژن هورمون رشد در جمعیت مرغ بومی استان آذربایجان غربی با استفاده از تکنیک PCR-RFLP

کاوه خاکپور[1*]، کریم مردانی[2] و علی هاشمی[3]

تاریخ دریافت:۸۹/۴/۲۶ تاریخ پذیرش:۹۰/۷/۱۷

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه

۲- استادیار بخش اپیدمیولوژی مولکولی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

۳-استادیار گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه

* مسئول مکاتبه: Email: kaveh.khakpour@gmail.com

چکیده

در این تحقیق برای شناسایی چند شکلی ناحیه اینترون ۱ ژن هورمون رشد درجمعیت مرغ بومی مرکز پرورش و اصلاح نژاد استان آذربایجان غربی، از تعداد ۹۸ قطعه طیور خونگیری انجام گرفت. DNA ژنومی از نمونه های خون استخراج گردید و قطعه ای به اندازه ۷۷۶ جفت باز از ناحیه اینترون ۱ ژن هورمون رشد با استفاده از واکنش زنجیره ای پلی مراز تکثیر شد. قطعه تکثیر شده بوسیله آنزیم برشی *MspI* هضم و بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز گردید. نتایج حاکی از وجود سه نوع آلل A_1، A_2 و A_3 در این جایگاه بود که فراوانی آنها در کل جمعیت به ترتیب ۳۱/۱۲، ۱۷/۸۶ و ۵۱/۰۲ درصد محاسبه شد. از شش ترکیب ژنوتیپی شناسایی شده ترکیبهای A_1A_3 و A_2A_2 به ترتیب با فراوانی های ۳۱/۶۳ و ۱/۰۲ درصد دارای بیشترین و کمترین فراوانی بودند. شاخص هتروزیگوتی و تعداد آلل موثر برای این جایگاه در کل جمعیت به ترتیب ۰/۶۱ و ۲/۵۷ به دست آمد. آزمون کای اسکور و جی تست برای تودهٔ مورد مطالعه، نشان داد که جامعه در حالت تعادل هاردی-واینبرگ قرار دارد. بر اساس نتایج بدست آمده می توان گفت که جایگاه اینترون ۱ ژن هورمون رشد در جمعیت مرغ های بومی آذربایجان غربی دارای تنوع ژنتیکی بالایی بوده و می تواند در برنامه های اصلاح نژادی به کار گرفته شود.

واژه های کلیدی : چند شکلی، هورمون رشد، مرغ بومی، آذربایجان غربی، PCR-RFLP.

Archive of SID

www.SID.ir

Polymorphism of Interon I of Chicken Growth Hormone Gene in West Azerbaijan Native Chicken Using PCR-RFLP

K Khakpour[1*], K Mardani[2] and A Hashemi[3]

Received: 17 July, 2010 Accepted: 9 September, 2011
[1]MSc, Department of Animal Science, University of Urmia, Urmia, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Animal Science, University of Urmia, Urmia, Iran
[*]Corresponding Author: kaveh.khakpour@gmail.com

Abstract
In order to study of the polymorphism of Interon 1 of chicken growth hormone gene (cGH) in West Azerbaijan native chicken, blood samples were collected from 98 birds. Genomic DNA was extracted and a fragment of 776 bp in size was amplified using polymerase chain reaction. The amplified fragments were subjected to restriction digestion with *Msp*I endonuclease and the resultant digested products were run on 2% agarose gel. The results revealed the existence of three alleles A_1, A_2 and A_3 for the examined locus with frequencies of 31.12, 17.86 and 51.02 percent, respectively. From six different genotypic variants, the genotypes of A_1A_3 (31.63%) and A_2A_2 (1.02%) had the highest and lowest frequencies, respectively. The expected heterozygosity and effective number of alleles were 0.61 and 2.57, respectively. Chi- square and G- tests showed that this population is in Hardy-Weinberg equilibrium. It can be concluded that Interon 1 of the cGH gene of west Azerbaijan native chicken has high genetic variation which can be considered for future breeding programs.

Keyword: Polymorphism, Growth hormone, West Azerbaijan, Native chicken, PCR-RFL

مقدمه

مرغان بومی ایران، منابع ژنتیکی با ارزش برای برنامه های اصلاح نژاد کشور محسوب می شوند که نسبت به شرایط جغرافیایی و تنش های محیطی اطراف خود، سازگاری و مقاومت پیدا کرده و نقش مهمی در اقتصاد خانواده های روستایی و عشایری ایفا کرده اند (ترکاشوند ۱۳۸۴ و میر حسینی ۱۳۷۷). مطالعه تنوع ژنتیکی در جمعیت مرغ های بومی، به منظور انجام دقیق تر برنامه های اصلاح نژادی و بهبود صفات اقتصادی و توان تولیدی، کسب اطلاعات و شناخت دقیق تر این حیوانات را ضروری می سازد و یکی از گام های اولیه و پایه برای حفظ و نگهداری این ذخایر ارزشمند ژنتیکی می باشد (جعفری و همکاران ۱۳۸۸، شهبازی آذر بریس ۱۳۸۲ و میر حسینی ۱۳۶۹). موفقیت برنامه های اصلاح نژادی بستگی به میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت دارد و فقدان تنوع، قدرت انتخاب های ژنتیکی را محدود می سازد (دهقان زاده و میر حسینی ۱۳۸۳) لذا حفظ تنوع ژنتیکی گونه ها در دستور کار موسسات اصلاح نژادی و سازمان های بین المللی مربوطه قرار دارد (فرانخان ۱۹۹۴).

انتخاب بر اساس اطلاعات مربوط به ژنها (ژنتیک مولکولی) می تواند با دقت بالاتری نسبت به روشهای ژنتیک کمی صورت گیرد و در امر بهگزینی، باعث کوتاه شدن فاصله بین نسلی بویژه برای صفات اقتصادی می شود. نژاد های بومی حیوانات در هر کشور بعنوان یک سرمایه ملی، ارزشمند می باشند و نگهداری و بهبود

Archive of SID

www.SID.ir

قابلیتهای تولیدی آنها از ارزش و اهمیت بسیاری برخوردار است. در طی هزاران سال، با وجود موانع بسیار و غلبه بر تمامی مشکلات از جمله انواع بیماریها و شرایط نامساعد محیطی، حیوانات بومی با انتخاب طبیعی قادر به تکثیر و حفظ نسل خود بوده اند (میر حسینی ۱۳۷۷). امروزه جهت انتخاب و اصلاح نژاد، ژنتیک مولکولی کاربردهای فراوانی پیدا نموده است زیرا استفاده از داده های کمی برای طراحی برنامه های انتخاب به منظور بهبود صفات تولیدی نه تنها مدت زمان زیادی را می طلبد بلکه در بسیاری از موارد سبب بروز عوارض نامطلوب مانند هموزیگوت شدن آلل های نامطلوب و کاهش تنوع ژنتیکی می شود ولی تکنیک های ژنتیک مولکولی، سبب کاهش عوارض نامطلوب شده و امکان انتخاب دقیق تر و دستیابی به پاسخ سریع تر را نیز ممکن می سازد (جعفری و همکاران ۱۳۸۸).

ساختار ژنومی هومون رشد[1] در حیوانات مختلفی شامل موش صحرایی (بارتا و همکاران ۱۹۸۱)، گاو (وویچیک و همکاران ۱۹۸۲)، گوسفند (بیرنه و همکاران ۱۹۸۷)، خوک (ویزه و ولز ۱۹۸۷)، انسان (روسکام و روگیون ۱۹۷۹، فیدس و همکاران ۱۹۷۹ و دنوتو و همکاران ۱۹۸۱)، بز (کیوکا و همکاران ۱۹۸۹)، مرغ (تاناکا و همکاران ۱۹۹۲) و موش (داس و همکاران ۱۹۹۶) مطالعه شده است. این ژن در حیوانات مختلف دارای یک ساختار مشابه شامل پنج اگزون و چهار انترون می باشد. ژن هورمون رشد مرغ (cGH)، مدت زیادی است که توجه زیادی از محقیقن را به خود جلب کرده زیرا که هورمون رشد برای رشد و متابولیسم مرغ ضروری است که از آن جمله می توان به مطالعه کوهنلین و همکاران (۱۹۹۷) روی نواحی اینترون ۱ و ۴ ژن هورمون رشد در ۱۲ گونه از مرغ های لگهورن سفید[2]، مطالعه ایپ و همکاران (۲۰۰۱) روی ناحیه اینترون ۱ ژن هورمون رشد مرغ های بومی چین[3]، مطالعه پیپالیا (۲۰۰۳) روی ناحیه اینترون ۱ جوجه های بانتام[4]، لگهورن سفید و لگهورن سفید بانتام[5]، مطالعه تکور و همکاران (۲۰۰۶) روی ناحیه اینترون ۱ ژن هورمون رشد در سه واریته از نژاد کاداکناز[6] مرغ بومی هند و مطالعه جعفری و همکاران (۱۳۸۸) روی نواحی اینترون ۱ و ۴ ژن هورمون رشد در مرغ های بومی اصفهان و مازندران اشاره کرد. cGH با ژنهای هورمون رشد پستانداران مشابه است ولی توالی نوکلئوتیدی اینترون های این ژن نسبت به اگزون ها، در مقایسه با پستانداران به طورمعنی داری طویل تر هستند (ایپ و همکاران ۲۰۰۱). cGH یک هورمون پلی پپتید ساخته شده و ترشح شده توسط قسمت قدامی غده هیپوفیز و بسیار چند شکل می باشد که در وظایف فیزیولوژیکی متنوعی از قبیل رشد، صفات لاشه (بینگکسیو و همکاران ۲۰۰۳)، ترکیب بدن، متابولیسم و محتوای چربی بطنی (فتوحی و همکاران ۱۹۹۳)، بلوغ، کنترل اشتها، افزایش وزن، پیری، تولید مثل (بیات و همکاران ۱۹۹۳ و آپا و همکاران ۱۹۹۴) و پاسخ دهی سیستم ایمنی (کللی و دیوید ۱۹۹۵) نقش دارد. این هورمون همچنین تولید تخم مرغ و مقاومت در برابر بیماریهایی از جمله مارک و لوکوز طیور را بالا می برد (فنگ و همکاران ۱۹۹۷، کوهنلین و همکاران ۱۹۹۷ و لیو و همکاران ۲۰۰۱).

ژن cGH با ۴۱۰۱ جفت باز، دارای ۵ اگزون و ۴ اینترون است که بر روی بازوی بزرگ کروموزوم شماره ۱ قرار گرفته است و کد کننده یک پروتئین بالغ هورمون رشد ۱۹۱آمینواسیدی و یک پپتید ۲۵ آمینواسیدی می باشد (بینگکسیو و همکاران ۲۰۰۳، نیه و همکاران ۲۰۰۵). کوهنلین و همکاران (۱۹۹۷) مشاهده کردند که آلل A_1 ژن هورمون رشد با تاخیر در شروع تخمک ریزی ارتباط دارد اما افزایش دوام تخمک گذاری را نیز سبب خواهد شد که این امر منجر به افزایش ۱۵ درصدی در تولید تخم مرغ می شود. ژن cGH به عنوان یک ژن کاندیدا جهت انتخاب برای بالا بردن کارایی استفاده شده است (کوهنلین و همکاران ۱۹۹۷). با استفاده از تکنیک PCR-RFLP، می توان تنوع آللی در

[1] Growth Hormone
[2] White Leghorn
[3] Native Chinese Chickens
[4] Bantam
[5] Bantamised white leghorn
[6] Kadaknath

Archive of SID

www.SID.ir

ژن هورمون رشد را شناسایی کرد و ارتباط فرم های مختلف آللی با صفات مهم اقتصادی را مطالعه نمود (تکور و همکاران ۲۰۰۶). هدف از تحقیق حاضر، شناسایی چند شکلی های موجود در ناحیه اینترون ۱ ژن هورمون رشد در جمعیت مرغ بومی مرکز پرورش و اصلاح نژاد استان آذربایجان غربی با استفاده از تکنیک PCR-RFLP و نیز تعیین فراوانی های آللی و ژنوتیپی برای این جایگاه در جمعیت مذکور بود.

مواد و روش ها

نمونه گیری

در این تحقیق تعداد ۹۸ قطعه پرنده از جمعیت ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد مرغ بومی استان آذربایجان غربی بصورت تصادفی و به شکل انفرادی انتخاب گردیدند که نمونه ها مخلوطی از هر دو جنس بودند (۶۵ مرغ و ۳۳خروس). مقدار یک میلی لیتر خون از ورید بالی پرنده اخذ گردید و در لوله های حاوی EDTA دو پتاسیم در مجاورت یخ به آزمایشگاه گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه منتقل و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند.

استخراج DNA و واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR)

DNA ژنومی از نمونه های خون با روش استخراج نمکی عمومی و سریع ارائه شده توسط الجنابی و مارتینز (۱۹۹۷) استخراج شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از روش اسپکتوفوتومتری و ژل آگارز ۱/۵ درصد کنترل گردید. با استفاده از یک جفت پرایمر اختصاصی پیشنهاد شده توسط کوهنلین و همکاران (۱۹۹۷)، یک قطعهٔ ۷۷۶ جفت بازی از ناحیه اینترون ۱ ژن هورمون رشد بوسیله واکنش زنجیره ای پلی مراز تکثیر شد که توالی این پرایمر ها به صورت زیر بود:

پرایمر رفت 5'-ATC CCC AGG CAA ACA TCC TC-3' و پرایمر برگشت 5'-CCT CGA CAT CCA GCT CAC AT- 3'.

واکنشPCR در حجم نهایی ۲۵ میکرو لیتر، شامل ۰/۲ میلی مولار dNTPs، ۱/۵ میلی مولار $MgCl_2$، ۱۰ میکرو مولار از هر یک از پرایمرها، ۲/۵ میکرولیتر از بافر PCR با غلظت ۱۰ برابر (**سینازن، ایران**) ، یک واحد آنزیم Taq پلی مراز و حدود ۱۰۰ نانوگرم از DNA ژنومی انجام گرفت. تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از یک مرحله ابتدایی واسرشته سازی ۹۴°C به مدت ۲ دقیقه و ۳۵ چرخه (واسرشته سازی در۹۴°C به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال آغازگرها ۶۰°C به مدت ۲دقیقه و دمای تکثیر ۷۲°C به مدت ۹۰ ثانیه) و یک دمای تکثیر نهایی ۷۲°C به مدت ۲ دقیقه جهت گسترش زنجیره استفاده شد. محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی اتیدیوم برماید با استفاده از دستگاه ترانسلومیناتور مشاهده و عکسبرداری شدند.

واکنش هضم آنزیمی (RFLP)

قطعه تکثیر شده بوسیله آنزیم برشی *Msp*I هضم شد. واکنش هضم آنزیمی در حجم ۲۰ میکرولیتر، حاوی یک میکرولیتر (۵ واحد) آنزیم *Msp*I، ۲ میکرولیتر بافر Tungo و ۵ تا ۷ میکرولیتر محصول PCR، در دمای ۳۷°C به مدت ۲ ساعت مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. بعد از هضم، محصولات برش داده شده با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد حاوی اتیدیوم برماید، الکتروفورز گردیدند.

آنالیز چندشکلی های مشاهده شده

چندشکلی های ژنوتیپی مشاهده شده به کمک نرم افزار Popgen32 مورد بررسی و آنالیز قرار گرفتند که در آن تعداد آلل های مؤثر بر اساس رابطه هارتل و کلارک (۱۹۸۹) ومعیار هتروزیگوتی بر اساس رابطه تنوع ژنی نئی (۱۹۷۳) بدست آمدند.

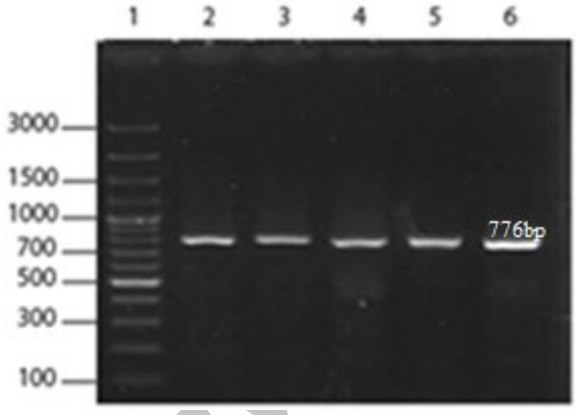
نتایج

محصولات PCR شامل قطعه ای به طول ۷۷۶ جفت باز از اینترون ۱ ژن هورمون رشد بود که توسط پرایمرهای اختصاصی فوق الذکر تکثیر شدند (شکل ۱). قطعات تکثیر شده بوسیله آنزیم برشی *Msp*I هضم و سپس بر روی ژل آگارز ۲ درصد حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردیدند (شکل ۲ قسمت a). بر اساس الگوهای حاصل از هضم آنزیمی، تنوع آللی ناحیه اینترون ۱ ژن cGH در حیوانات مورد آزمایش تعیین

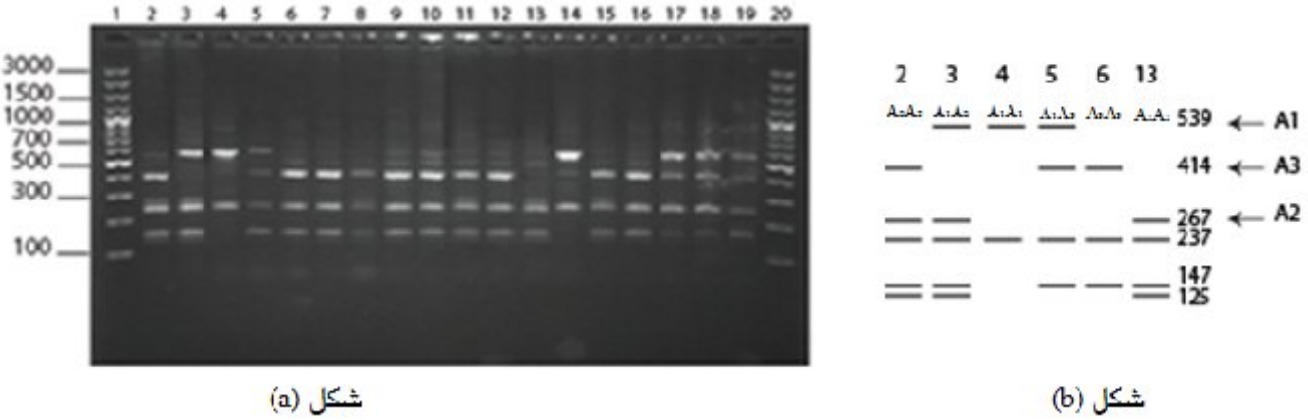
Archive of SID
www.SID.ir

گردید. نتایج حاصل حاکی از وجود سه آلل A_1 (با یک محل برش و تولید قطعاتی به طول ۵۳۹ و ۲۳۷ جفت بازی)، آلل A_2 (با سه محل برش و تولید قطعاتی به طول ۲۶۷، ۲۳۷، ۱۴۷ و ۱۲۵ جفت بازی) و آلل A_3 (با دو محل برش و تولید قطعاتی به طول ۴۱۴، ۲۳۷ و ۱۲۵ جفت بازی) در این جایگاه ژنی بود که این محل های برش بر اساس نتایج مطالعه ایپ و همکاران (۲۰۰۱) تعیین شدند. فراوانی آلل های A_1، A_2 و A_3 به ترتیب در مرغ ها ۳۳/۸۵، ۲۰/۰۰ و۴۶/۱۵ درصد، در خروسها ۲۵/۷۶، ۱۳/۶۴ و۶۰/۶۱ درصد و در کل جمعیت ۳۱/۱۲، ۱۷/۸۶ و۵۱/۰۲ درصد محاسبه شد. شاخص هتروزیگوتی، تعداد آلل موثر، فراوانی های آللی و ژنوتیپی محاسبه شده در این جایگاه برای مرغ ها و خروس ها و کل جمعیت، در جدول های ۱ و ۲ ارائه شده است.

در جدول ۳ نیز فراوانی آلل های A_1، A_2 و A_3 در مرغ های بومی هند (نژاد کاداکناز)، مرغ های بومی چین، لگهورن تخمگذار و مرغ های بومی استان های آذربایجان غربی، اصفهان و مازندران برای جایگاه اینترون ۱ ژن هورمون رشد آورده شده است.



شکل ۱-محصولات PCR ران شده بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. چاهک ۱: نشانگر مولکولی bp ۱۰۰ (سیناژن، ایران)، چاهک های ۵-۲ محصولات PCR (قطعه ۷۷۶ جفت بازی) ناحیه اینترون ۱ ژن cGH.



شکل (a) شکل (b)

شکل۲- (a) الگو هایRFLP حاصل از هضم محصولات PCR با آنزیم *Msp*I و الکتروفورز شده بر روی ژل آگارز ۲ درصد.

چاهکهای ۱ و ۲۰: نشانگر مولکولی bp ۱۰۰، چاهکهای۲، ۸، ۱۱ و ۱۵: ژنوتیپ A_2A_3، چاهک ۳: ژنوتیپ A_1A_2، چاهکهای ۴ و ۱۴: ژنوتیپ A_1A_1، چاهکهای ۵، ۱۷، ۱۸ و ۱۹: ژنوتیپ A_1A_3، چاهکهای ۶، ۷، ۹، ۱۰، ۱۲ و ۱۶: ژنوتیپ A_3A_3، چاهک ۱۳: ژنوتیپ A_2A_2. (b) الگوی های شماتیک RFLP مربوط به ژنوتیپهای شناسایی شده در این مطالعه. اعداد بالای الگوها بیانگر شماره چاهکهای شکل a می باشند و اعداد ستون آخر از سمت راست مربوط به اندازه قطعه های حاصل از برش توسط آنزیم *Msp*I، (بر حسب جفت باز) می باشند. باندهای مشخص کننده آلل ها نیز در شکل نشان داده شده اند.

www.SID.ir

جدول ۱- فراوانی آللی،اندازه آلل موثر و شاخص هتروزیگوتی در طیور بومی استان آذربایجان غربی

آلل	فراوانی آللی (٪)			اندازه موثر آللی			شاخص هتروزیگوتی		
	مرغ	خروس	کل جمعیت	مرغ	خروس	کل جمعیت	مرغ	خروس	کل جمعیت
A_1	۳۳/۸۵	۲۵/۷۶	۳۱/۱۲	۲/۷۲	۲/۲۱	۲/۵۷	۰/۶۳	۰/۵۴	۰/۶۱
A_2	۲۰/۰۰	۱۳/۶۴	۱۷/۸۶						
A_3	۴۶/۱۵	۶۰/۶۱	۵۱/۰۲						

جدول۲- فراوانی های ژنوتیپی و مقادیر کای اسکور و جی تست برای بررسی تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت مرغ بومی استان آذربایجان.غربی

ژنوتیپ	فراوانی						فراوانی ژنوتیپی (٪)		
	مشاهده شده			مورد انتظار					
	مرغ	خروس	کل جمعیت	مرغ	خروس	کل جمعیت	مرغ	خروس	کل جمعیت
A_1A_1	۵	۴	۹	۷/۳۳	۲/۰۹	۹/۳۸	۷/۶۹	۱۲/۱۲	۹/۱۸
A_1A_2	۱۱	۱	۱۲	۸/۸۶	۲/۳۵	۱۰/۹۴	۱۶/۹۲	۳/۰۳	۱۲/۲۴
A_1A_3	۲۳	۸	۳۱	۲۰/۴۶	۱۰/۴۶	۳۱/۲۸	۳۵/۳۸	۲۴/۲۴	۳۱/۶۳
A_2A_2	۱	۰	۱	۲/۵۱	۰/۵۵	۳/۰۵	۱/۵۳	۰/۰۰	۱/۰۲
A_2A_3	۱۳	۸	۲۱	۱۲/۰۹	۵/۵۳	۱۷/۹۴	۲۰/۰۰	۲۴/۲۴	۲۱/۴۲
A_3A_3	۱۲	۱۲	۲۴	۱۳/۷۲	۱۲/۰۰	۲۵/۳۸	۱۸/۴۶	۳۶/۳۶	۲۴/۴۸
کای اسکور				$۲/۷۶^{ns}$	$۴/۷۴^{ns}$	$۲/۰۹^{ns}$			
جی تست				$۳/۰۹^{ns}$	$۵/۰۶^{ns}$	$۲/۵۵^{ns}$			

جدول۳- فراوانی های آللی (٪) در مرغ های بومی هند، چین، لگهورن و مرغ بومی استان های آذربایجان غربی، اصفهان و مازندران

آلل	مرغ بومی استان آذربایجان.غربی	مرغ بومی استان مازندران	مرغ بومی استان اصفهان	لگهورن	مرغ بومی چین	مرغ بومی هند (نژاد کاداکناز)
A_1	۳۱/۱۲	۶۷/۰۰	۱۹/۰۰	۹۵/۰۰	۲۸/۰۰	۳۷/۵۰
A_2	۱۷/۸۶	۵/۰۰	۲۱/۰۰	۰/۰۰	۱۸/۰۰	۰/۰۰
A_3	۵۱/۰۲	۲۸/۰۰	۶۰/۰۰	۵/۰۰	۵۴/۰۰	۶۲/۵۰

بحث

پیپالیا (۲۰۰۳) چند شکلی ناحیه اینترون ۱ ژن هورمون رشد را در مرغ های بانتام، لگهورن سفید و لگهورن سفید بانتام مطالعه کرد که تنها دو آلل A_1 و A_3 و سه نوع ژنوتیپ را برای این ناحیه شناسایی کرد به طوریکه فراوانی آنها در مرغ های بانتام در حد متوسط و در مرغ های لگهورن سفید بانتام آلل A_1 بیشترین فراوانی (۸۸/۷۸) را به خود اختصاص داده بود و در مرغ های لگهورن سفید نیز تنها وجود آلل A_1 را گزارش کرد.

تکور و همکاران (۲۰۰۶) نیز چند شکلی ناحیه اینترون ۱ ژن هورمون رشد، در سه واریته از نژاد کاداکناز مرغ های بومی هند را مطالعه کردند. نتایجی که آنها بدست آوردند تقریبا مشابه نتایج پیپالیا (۲۰۰۳) بود به طوریکه آنها نیز تنها دو آلل A_1 و A_3 و سه نوع ژنوتیپ را شناسایی کردند ولی بیشترین فراوانی را

Archive of SID

www.SID.ir

برای آلل A_3 (۶۲/۵۰) گزارش کردند (جدول ۳) در حالیکه پیپالیا (۲۰۰۳) فراوانی بیشتری از آلل A_1 را در مرغ های بانتام، لگهورن سفید و لگهورن سفید بانتام گزارش کرده بود.

ایپ و همکاران (۲۰۰۰) چند شکلی ژنومی اینترون ۱ ژن هورمون رشد را در چهار جمعیت شامل مرغ های بومی چین، دورگه هایی از مرغ بومی چین و نژاد های گوشتی وارده، نژاد های گوشتی و نژاد های تخمگذار مطالعه کردند. آنها الگوی مشابهی از فراوانی های آللی را بین مرغ های بومی چین و نژاد های گوشتی مشاهده کردند ولی تفاوت معنی داری بین فراوانی های آللی نژاد لگهورن تخمگذار و مرغ های بومی چین بدست آوردند یعنی در این نژاد تخمگذار، فراوانی آللی ۰/۹۵ را برای آلل A_1 و فراوانی صفر را برای آلل A_2 بدست آوردند (جدول ۳). با توجه به اینکه این نژاد، برای عملکرد تخمگذاری انتخاب شده است پس نبود آلل A_2 و فراوانی بالای آلل A_1 می تواند با عملکرد تخمگذاری ارتباط داشته باشد. آنها در مرغ های بومی چین سه آلل A_1، A_2و A_3 و شش نوع ژنوتیپ را شناسایی کردند که آلل A_3 با فراوانی ۵۴٪ دارای بیشترین فراوانی و به عنوان آلل غالب در بین همهٔ نژاد های مورد مطالعه غیر از نژاد لگهورن شناسایی شد و آلل A_2 با فراوانی ۱۸٪ دارای کمترین فراوانی بود (جدول ۳) و پیشنهاد کرده بودند که آلل A_2 ممکن است در اثر وقوع یک جهش و ایجاد یک محل برش جدید برای آنزیم *Msp*I به وجود آمده باشد پس فراوانی آن کمتر از سایر آلل ها خواهد بود.

جعفری و همکاران (۱۳۸۸) چند شکلی نواحی اینترون ۱ و ۴ ژن هورمون رشد را در مرغ های بومی اصفهان و مازندران به روش PCR-RFLP مطالعه کردند. آنها نیز توانستند آلل های A_1، A_2 و A_3 را برای ناحیه اینترون ۱ ژن هورمون رشد در هر دو جمعیت مرغ بومی اصفهان و مازندران شناسایی کنند ولی تفاوت زیادی بین فراوانی های ژنی این دو جمعیت مشاهده کردند به طوریکه بیشترین فراوانی آللی در جمعیت مرغ بومی اصفهان مربوط به آلل A_3 (۶۰٪) و در جمعیت مرغ بومی مازندران مربوط به آلل A_1 (۶۷٪) بود (جدول ۳).

در تحقیق حاضر نیز، سه آلل A_1، A_2 و A_3 و شش نوع ژنوتیپ در کل جمعیت شناسایی شد که آلل A_3 دارای بیشترین و آلل A_2 دارای کمترین فراوانی بود که این نتایج تا حدودی مشابه با نتایج تحقیقات قبلی، خصوصا نتایجی است که ایپ و همکاران (۲۰۰۱) برای مرغ های بومی چین بدست آوردند یعنی در هر دو نژاد، سه نوع آلل A_1، A_2 و A_3 و شش نوع ژنوتیپ با فراوانی های تقریباً مشابه و نزدیک بهم بدست آمده است که می تواند شباهت این دو نژاد را بهم نشان دهد ولی در مقایسه با مرغ های بومی هند و نژاد لگهورن تخمگذار، که آلل A_2 در آنها مشاهده نشده است، فراوانی های آللی و ژنوتیپی تفاوت چشمگیری را نشان می دهد.

جدول ۳ فراوانی آلل های A_1، A_2 وA_3 در مرغ های بومی هند، مرغ های بومی چین، لگهورن تخمگذار و مرغ های بومی استان های اصفهان، مازندران و آذربایجان غربی را نشان می دهد. همانطور که ملاحظه می شود در مرغ های بومی هند، چین، اصفهان و آذربایجان غربی، آلل A_3 دارای بیشترین فراوانی می باشد و آلل A_2 در مرغ های بومی هند و نژاد لگهورن وجود ندارد و در مرغ های بومی مازندران نیز فراوانی آن خیلی کم (۵٪) می باشد که شباهت موجود در فراوانی های آللی یافت شده در این جمعیت ها می تواند گویای شباهت ژنتیکی از نظر صفات تاثیر پذیر از این جایگاه باشد که البته با توجه به عدم وجود اطلاعات فنوتیپی این جمعیت ها، نمی توان به طور یقین در این زمینه اظهار نظر نمود.

بر طبق پیشنهاد ایپ و همکاران (۲۰۰۱) و با توجه به اینکه نژاد لگهورن برای عملکرد تخمگذاری انتخاب شده است، میتوان حدس زد که نبود آلل A_2 و فراوانی بالای آلل A_1 با عملکرد تخمگذاری ارتباط داد و نتیجه گرفت که پتانسیل تولید تخم مرغ در مرغ های بومی مازندران نسبت به مرغ های بومی چین، هند، اصفهان و آذربایجان غربی بیشتر می باشد ولی اینکه آیا واقعا نبود آلل A_2برای انتخاب از نظر عملکرد تخمگذاری مهم هست یا نه، هنوز به طور قطع مشخص نیست و لازم است که مطالعات بیشتری در این زمینه صورت گیرد.

در این مطالعه، مقایسهٔ جداگانه ای بین مرغ ها و خروس های بومی استان آذربایجان غربی نیز انجام

Archive of SID

www.SID.ir

گرفت (جدول ۱) که هم در مرغ ها و هم در خروس ها، آلل A_3 دارای بیشترین فراوانی و سپس آللهای A_1 و A_2 در رده های بعدی قرار داشتند ولی فراوانی آلل A_3 در خروس ها بیشتر از مرغ ها، و فراوانی آللهای A_1 و A_2 در مرغ ها بیشتر از خروس ها بود که تفاوت موجود در فراوانی آللی در مرغ ها و خروس ها می تواند دلیل بر تفاوت در صفات فنوتیپی آنها باشد که متاسفانه بدلیل نداشتن اطلاعات تولیدی (فنوتیپی) مرغ ها و خروس های مورد استفاده در این تحقیق نمی توان بطور قطع در این خصوص اظهار نظر نمود.

تفاوت بین فراوانی های ژنوتیپی مشاهده شده و موردانتظار برای بررسی تعادل هاردی-واینبرگ با استفاده از آزمون کای اسکور و جی تست در جمعیت طیور بومی استان آذربایجان غربی، معنی دار نبوده که نشان می دهد جمعیت در حالت تعادل هاردی-واینبرگ قرار داشته و می توان نتیجه گرفت که آلل های موجود در این جایگاه تحت تاثیر عوامل تغییر دهندهٔ فراوانی های آللی و ژنوتیپی قرار نگرفته اند.

برای بررسی جمعیت مرغ ها و خروس های استان آذربایجان غربی از نظر تعادل هاردی-واینبرگ نیز، فراوانی های ژنوتیپی مشاهده شده و موردانتظار آنها به طور جداگانه از طریق آزمون کای اسکور و جی تست، مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاصل بیانگر عدم انحراف مرغ ها و خروس ها از حالت تعادل بود که این نتایج با توجه به انتخاب تصادفی مرغ ها و خروس های مورد بررسی از جمعیت، دور از انتظار نبود .این نتایج گویای این مطلب است که ظاهرا انتخابی بر اساس آلل های موجود در این جایگاه در مرغ ها و خروس های این جمعیت در جهت افزایش یا کاهش صفات فنوتیپی مورد نظر صورت نگرفته است.

با توجه به نتایج این تحقیق می توان گفت که ناحیه اینترون ۱ ژن هورمون رشد طیور بومی استان آذربایجان غربی، چند شکلی قابل ملاحظه ای دارد که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی نسبتا بالایی برای این جایگاه در این جمعیت می باشد بطوریکه می توان از آن در برنامه های انتخاب و اصلاح نژادی آینده و نیز به عنوان ذخایر ژنتیکی استفاده نمود.

تشکر و قدر دانی

نویسندگان مقاله از همکاری و کمک مسئولین محترم مرکز پرورش و اصلاح نژاد مرغ بومی استان آذربایجان غربی خصوصا جناب آقای مهندس پرویز بستانچی نهایت تشکر و امتنان را دارند. همچنین از معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه که هزینه اجرای این تحقیق را تأمین نموده اند سپاسگزاری می گردد.

منابع مورد استفاده

ترکاشوند ر، ۱۳۸۴. مروری بر تحولات مرغ بومی ایران. مجموعه مقالات اولین همایش مرغ بومی کشور. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور-کرج.

جعفری ا، پاکدل ع و اسماعیل خانیان س، ۱۳۸۸. بررسی چند شکلی نواحی اینترون ۱ و ۴ ژن هورمون رشد در مرغ های بومی اصفهان و مازندران. ژنتیک نوین، دوره چهارم، شماره ۳. صفحه های ۳۷ تا ۴۳.

دهقان زاده ه و میر حسینی س ض، ۱۳۸۳. بررسی تنوع ژنتیکی مرغان بومی ایران با استفاده از نشانگر هایRAPD. پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، شماره ۶۲، بهار ۱۳۸۳.

شهبازی آذر بریس ص، ۱۳۸۲. بررسی تنوع ژنتیکی پنج جمعیت از مرغان بومی ایران با استفاده از نشانگر های چند شکلی ریز ماهواره. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان.

Archive of SID

www.SID.ir

میر حسینی س ض، ۱۳۶۹. تخمین پتانسیل ژنتیکی مرغ بومی ایران در شرایط نیمه صنعتی و مقایسه آن با شرایط روستایی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.

میر حسینی س ض، ۱۳۷۷. بررسی تنوع ژنتیکی لاین های کرم ابریشم ایران با استفاده از نشانگر های پروتئینی و دی ان آ. رساله دکتری، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.

Aljanabi SM and Martinez L, 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. Nucleic Acids Res 25: 4692-4693.

Apa R, Lanzone A and Micheli F, 1994. Growth hormone induces in vitro maturation of follicle and cumulus-enclosed rat oocytes. Mol Cell Endocr 106: 207-212.

Barta A, Richards RI, Baxter JD and Shine J, 1981. Primary structure and evolution of rat growth hormone gene. Proc Natl Acad Sci USA 78: 4867-4871.

Bingxue Y, Xuemel 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. Chin Sci Bull 15: 1561-1564.

Byatt JC, Staten NR, Salsgiver WJ, Kostelec JC and Collier RJ, 1993. Stimulation of food intake and weight gain in mature female rats by bovine prolactin and bovine growth hormone gene. Am J Physiol 264: 986-992.

Byrne CR, Wilson BW and Ward KA, 1987. The isolation and characterization of the ovine growth hormone gene. Aust J Biol Sci 40:459-468.

Das P, Meyer L, Seyfert HM, Brockmann G and Schwerin M, 1996. Structure of the growth hormone-encoding gene and its promoter in mice. Gene 169:209-213.

DeNoto FM, Moore DD and Goodman HM, 1981. Human growth hormone DNA sequence and mRNA structure: Possible alternative splicing. Nucleic Acids Res 9:3719-3730.

Feng XP, Kuhnlein U, Aggrey SE, Gavora JS and Zadworny D, 1997. Trait association of genetic markers in the growth hormone and the growth hormone receptor gene in a White Leghorn strain. Poult Sci 76 :1770 -1775.

Fiddes JC, Seeburg PH, DeNoto FM, Hallewell RA, Baxter JD and Goodman HM, 1979. Structure of genes for human growth hormone and chorionic somatomammotropin. Proc Natl Acad Sci USA 76: 4294-4298.

Fotouhi N, Karatzas CN, Kuhnlein U and Zadworny D, 1993. Identification of growth hormone DAN Polymorphisms which respond to divergent selection for abdominal fat content in chickens. Theor Appl Genet 85: 931-936.

Frankhan R, 1994. Conservation of genetic diversity for animal improvement. 27:385-392. 5th world congress on Genetic Applied to livestock production. University of Guelph, Ontario, Canada.

Hartl DL and Clark AG 1989. Principles of population genetics. 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland, M.A.

Ip SC Zhang X and Leung FC, 2001. Genomic growth hormone gene polymorphism in native Chinese chicken. Exp Biol Med 226:458-462.

Kelley SM and David LF, 1995. Experimental basis for neural immune interactions. Physiol Rev 75:77-106.

Kioka N Manabe E Abe M Hashi H Yato M Okuno M Yamano Y Sakai H Komano T Utsumi K and Iritani A, 1989. Cloning and sequencing of goat growth hormone gene. Agric Biol Chem 53:1583–1587.

Archive of SID

www.SID.ir

Kuhnlein U, Liu N, Weigend S, Gavora JS, Fairfull W and Zadworny D, 1997. DNA polymorphisms in the chicken growth hormone gene: response to selection for disease resistance and association with egg production. Anim Genet 28:116-123.

Liu HC, Kung HJ, Fulton JE, Morgan RW and Cheng HH, 2001. Growth hormone interacts with the Marek's disease virus SORF2 protein and is associated with disease resistance in chicken. Proc Natl Acad Sci USA 98: 9203-9208.

Nei M, 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc Natl Acad Sci USA 70: 3321-3323.

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 trait. J Hered 96: 698-703.

Pipalia DL, 2003. Growth hormone gene polymorphism in Bantam, White Leghorn and Bantamised White Leghorn. Indian J Poult Sci 38: 206-211.

Roskam WG and Rougeon F, 1979. Molecular cloning and nucleotide sequence of the human growth hormone structural gene. Nucleic Acids Res 7:305-320.

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.

Thakur MS, Parmar SN, ToJenkhomba TC, Srivastava PN, Joshi CG, Rank DN, SoJanki JV and Pillai PV, 2006. Growth hormone gene polymorphism in Kadaknath breed of poultry. Indian J Bio 5**:**189-194.

Vize PD and Wells JRE, 1987. Isolation and characterization of the porcine growth hormone gene. Gene 55:339-344.

Woychik RP, Camper SA, Lyons RH, Horowitz S, Goodwin EC and Rottoman FM, 1982. Cloning and nucleotide sequencing of the bovine growth hormone gene. Nucleic Acids Res 10:7192-7210.

Archive of SID

www.SID.ir