

اثر جایگاه ژنی $TGF\beta_3$ بر ارزش‌های اصلاحی و فنوتیپی صفات وزن بدن در مرغان بومی مازندران

بابک عنایتی*^۱ و قدرت‌اله رحیمی^۲

(E-mail: bkenayati@gmail.com)

تاریخ وصول مقاله: ۹۰/۳/۲۰، تاریخ پذیرش مقاله: ۹۰/۱۲/۱۳

چکیده

ژن فاکتور مؤثر بر رشد بتا به عنوان ژن مؤثر و مهم در فرآیند رشد و تمایز سلولی شناخته شده است. به منظور بررسی چندشکلی ژن فاکتور مؤثر بر رشد بتا- $TGF\beta_3$ از ۱۶۰ قطعه مرغ مولد ایستگاه اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران به طور تصادفی خون‌گیری شد. استخراج DNA به کمک روش نمکی بهینه یافته و تکثیر یک قطعه به طول ۲۹۵ جفت باز (بخشی از اینترون ۴، کل اگزون ۵ و بخش کوچکی از اینترون ۵) با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی انجام شد. قطعه تکثیر شده بعد از هضم به کمک آنزیم *BsiYI* دو آلل + و به ترتیب با فراوانی ۰/۸۰۳۷ و ۰/۱۹۶۱ را آشکار نمود. فراوانی ژنوتیپ‌های "+/+", "+/-" و "-/-" به ترتیب ۰/۶۶۴۵، ۰/۲۷۸۴ و ۰/۰۵۶۹ برآورد شدند. آنالیز آماری نتایج به دست آمده نشان داد که وجود یک آلل + در ژنوتیپ می‌تواند میانگین صفات وزن بدن در سنین یک‌روزگی و هشت هفتگی را به صورت معنی‌داری درمقایسه با ژنوتیپ -/- افزایش دهد که نشان‌دهنده نقش تأثیرگذار آلل + در افزایش ارزش فنوتیپی وزن بدن در جوجه‌ها می‌باشد ($P < 0/05$). در پایان می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که نشانگر مورد مطالعه به همراه دیگر فرم‌های آللی ثبت شده در جایگاه ژنی $TGF\beta_3$ می‌تواند در درک هر چه بهتر کنترل ژنتیکی نرخ رشد در جوجه‌ها مفید باشد.

کلمات کلیدی: ارزش ژنوتیپی، ژن $TGF\beta_3$ ، چندشکلی، وزن بدن، مرغ بومی مازندران

۱ - دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مازندران، ساری - ایران (نویسنده مسئول مکاتبات)*

۲ - استاد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دام و آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری - ایران

مقدمه

میواستاتین عضو جدیدی از خانواده بزرگ فاکتور مؤثر بر رشد بتا است که به صورت اختصاصی در ماهیچه اسکلتی بیان شده و به عنوان تنظیم‌کننده رشد در این بافت عمل می‌کند (۶). هدف از انجام این تحقیق، شناسایی چندشکلی آللی در قسمتی از بخش انتهای اینترون ۴، کل آگزون ۵ و بخش کوچکی از اینترون ۵ ژن جایگاه فاکتور مؤثر بر رشد بتا-۳ و رابطه ژنوتیپ‌های حاصل از چندشکلی این ژن با داده‌های فنوتیپی و ارزش‌های اصلاحی صفات مرتبط با وزن بدن در مرکز اصلاح نژاد مرغان بومی استان مازندران بود.

مواد و روشها

نمونه‌برداری و انجام واکنش PCR

تعداد ۱۶۰ نمونه خون از مرغ‌های ایستگاه اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران به طور تصادفی تهیه و DNA از ۵۰ میکرولیتر خون تام به روش نمکی بهینه یافته استخراج شد. مقدار و کیفیت DNA استخراج شده به ترتیب به وسیله روش‌های اسپکتروفتومتری و ژل الکتروفورز تعیین گردید. تکثیر قطعات مورد نظر در جایگاه $TGF\beta_3$ توسط آغازگر اختصاصی و با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) انجام گرفت (جدول ۱).

غلظت مواد مورد استفاده در PCR و نیز دما و زمان‌های مورد استفاده در سیکل حرارتی برای هر یک از جایگاه‌ها در جدول‌های (۲) و (۳) ارائه شد. پس از انجام واکنش PCR، محصولات آن به کمک ژل آگارز ۰/۸ درصد به مدت ۲۵ دقیقه با ولتاژ ۸۵ الکتروفورز شد. سپس با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و به کمک اشعه ماوراءبنفش باندها مشاهده و برای مقایسه قطعات تکثیر شده و اندازه‌گیری طول آن‌ها از نشانگر ۵۰ جفت باز (SMO371 کمپانی فرمنتاز) استفاده شد.

علی‌رغم این‌که توارث صفات کمی تحت تأثیر تعداد زیادی ژن قرار دارد، اما ژن‌های اصلی^۱ نیز در تغییرات فنوتیپی یک صفت نقش دارند. شناسایی ژن‌های اصلی و چگونگی ارتباط آنها با صفات تولیدی برای پیش‌بینی ارزش اصلاحی حیوانات و کاهش خطا در انتخاب مؤثر می‌باشد.

آثار بیولوژیکی فاکتور مؤثر بر رشد بتا ($TGF\beta$) شامل تأثیر روی تمایز، تکثیر و رشد سلولی، تشکیل ماتریکس خارج سلولی و عملکرد ایمنی است (۱۳). زیر خانواده فاکتور بتا یکی از مهمترین ژن‌های مؤثر در صفات رشد و سازگاری می‌باشند (۱). ژن‌های خانواده بزرگ $TGF\beta$ در تولید پروتئین‌هایی نقش دارند که انتقال‌دهنده پیام از یک سلول به سلول دیگر می‌باشند و نقش آن‌ها در رشد و سازگاری سلول‌ها مهم است (۱۱). خانواده $TGF\beta$ دارای چهار ژن به نام‌های $TGF\beta_1$ ، $TGF\beta_2$ ، $TGF\beta_3$ و $TGF\beta_4$ می‌باشد (۲ و ۳). ژن $TGF\beta_3$ طیور روی کروموزوم شماره پنج قرار دارد (۵). فعالیت‌های بیولوژیکی اشکال مختلف $TGF\beta$ در طیور تقریباً مشابه پستانداران گزارش شده است (۴). ژن‌های $TGF\beta$ بر رشد و تمایز انواع مختلفی از سلول‌ها و نیز در ساخت ماهیچه، غضروف، استخوان، خون، چربی و سلول‌های پوششی نقش دارند (۱ و ۱۴). تعدادی از محققین رابطه ژن‌های $TGF\beta$ با جایگاه صفات کمی سازوکارهای پاسخ ایمنی در مرغ‌ها را بررسی کرده و مشخص نموده‌اند که این ژن یا ژن‌های پیوسته به آن در ارتباط با پاسخ ایمنی می‌باشند. نتایج این تحقیقات نشان داد که SNP‌های موجود در جایگاه $TGF\beta$ ممکن است در انتخاب براساس نشانگر برای تولید آنتی‌بادی مفید باشند (۱۶). بررسی چندشکلی تک نوکلئوتیدی روی ژن میواستاتین در لاین‌های مختلف مرغ نشان می‌داد که

1 - Major gene

2 - Single Nucleotide Polymorphism

جدول ۱ - توالی آغازگرهای مورد استفاده

منبع	توالی (۳' ----- ۵')	نام جايگاه
۷	TCAGGGCAGGTAGAGGGTGT	TGF β_3
	GCCACTGGCAGGATTCTCAC	

جدول ۲ - درجه حرارت و زمان در واکنش PCR

ژن	مراحل	دما (°C)	زمان (ثانیه)
TGF β_3	واسرشته‌سازی	۹۴	۶۰
	اتصال	۵۸	۶۰
	بسط	۷۲	۶۰

جدول ۳ - غلظت مواد مورد استفاده در واکنش PCR

غلظت نهایی	اجزای واکنش
۱X	بافر PCR
۰/۲ میلی مولار	MgCl ₂
۰/۲ میلی مولار	dNTP
۰/۵ میکرو مولار	پرایمر رفت
۰/۵ میکرو مولار	پرایمر برگشت
۵۰ نانوگرم	DNA الگو
۱ واحد	آنزیم تک پلیمرز
تا حجم ۲۵ میکرولیتر	ddH ₂ O
۲۵ میکرولیتر	حجم کل

آنزیم برش‌دهنده *Bsi*YI، ۲/۵ میکرولیتر بافر واکنش آنزیمی (۱۰X) و ۸/۸ تا ۱۰/۸ میکرولیتر آب دیونیزه استفاده شد.

برای هضم آنزیمی محصولات حاصل از واکنش PCR از شش تا هشت میکرولیتر محصول PCR، ۰/۷ میکرولیتر

بدن در زمان بلوغ جنسی^۱ می‌باشد. بردارهای b_1 تا b_4 حاوی اثرات ثابت ناپیوسته سال - نوبت جوجه‌کشی و اثر جنس و اثر ثابت پیوسته سن بلوغ جنسی و بردارهای a_1 تا a_4 حاوی اثرات تصادفی ژنتیکی (ارزش اصلاحی) صفات BW_1 ، BW_8 ، BW_{12} و BWM و بردار m_1 تا m_4 حاوی بردار اثرات مادری صفات BW_1 ، BW_8 ، BW_{12} و BWM می‌باشد. اثرات مادری به دلیل تأثیر مواد مغذی و اندازه تخم بر وزن تولد است که متأثر از شرایط بدن مرغ مادر می‌باشد.

تعیین اثر ژنوتیپ

برای تعیین رابطه بین ژنوتیپ‌های حاصل با داده‌های فنوتیپی از رویه GLM نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) و از تابع شماره دو برای سه صفت وزن یک‌روزگی، وزن هشت هفتگی و ۱۲ هفتگی و از تابع زید برای صفت وزن در زمان بلوغ جنسی استفاده شد (۱۲):

$$y_{ijkl} = \mu + g_i + h_j + s_k + \varepsilon_{ijkl} \quad (2)$$

در این رابطه، y_{ijkl} مقدار فنوتیپی صفت مورد بررسی، μ میانگین کل، g_i اثر ژنوتیپ‌های $TGF\beta_3$ ، h_j اثر نوبت جوجه‌کشی، s_k اثر جنس و ε_{ijkl} اثر تصادفی باقی‌مانده می‌باشد.

$$y_{ijkl} = \mu + g_i + h_j + s_k + b(x_{ijk} - \bar{x}) + \varepsilon_{ijkl} \quad (3)$$

در این رابطه، y_{ijkl} مقدار فنوتیپی صفت مورد بررسی، μ میانگین کل، g_i اثر ژنوتیپ‌های $TGF\beta_3$ ، h_j اثر نوبت جوجه‌کشی، s_k اثر جنس، ε_{ijkl} اثر تصادفی باقی‌مانده، b ضریب رگرسیون سن بلوغ جنسی بر صفت وزن بدن در زمان بلوغ، x_{ijk} سن بلوغ جنسی و \bar{x} میانگین تصحیح شده صفت سن بلوغ جنسی می‌باشد.

محصولات PCR بعد از هضم آنزیمی روی ژل آگارز ۲/۵ درصد الکتروفورز و آل‌ها به کمک رنگ‌آمیزی با اتدیوم بروماید، شناسایی شدند. با شناسایی آل‌ها، ژنوتیپ هر یک از نمونه‌ها تعیین و فراوانی ژنی و ژنوتیپی با نرم‌افزار POPGEN نسخه ۱/۳۱ برآورد شد (۱۵).

پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی

برای پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی نمونه‌های مورد مطالعه از اطلاعات شجره‌ای و رکوردهای سال ۱۳۷۵ به بعد مرغ‌های بومی مرکز اصلاح نژاد مرغ استان مازندران استفاده شد. فایل داده‌ها دارای حدود ۴۰۰۰۰ رکورد، مربوط به نه نسل و چهار نوبت جوجه‌کشی در هر نسل بود. برآورد ارزش اصلاحی به صورت چندصفتی و با کمک مدل شماره سه نرم‌افزار DFREML، (دارای اثرات افزایشی و اثرات مادری) انجام شد (۹). برای پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی صفات وزن بدن در یک روزگی (BW_1)، هشت هفتگی (BW_8) و ۱۲ هفتگی (BW_{12}) از تابع شماره ۱ استفاده شد. چون سن بلوغ جنسی می‌تواند بر صفت وزن بدن در زمان بلوغ جنسی (BWM) مؤثر باشد، عامل سن بلوغ جنسی به عنوان یک اثر تصادفی برای پیش‌بینی ارزش اصلاحی صفت وزن بدن در زمان بلوغ جنسی در نظر گرفته شد:

$$y_i = X_i b_i + Z_{1i} a_i + Z_{2i} m_i + e_i \quad (1)$$

در این رابطه، y_i بردار مشاهدات i امین صفت، b_i بردار اثر عوامل ثابت بر مشاهدات i امین صفت، a_i بردار ارزش اصلاحی، m_i بردار اثرات مادری، e_i بردار اثر باقیمانده مؤثر بر مشاهدات i امین صفت، X_i ماتریس ضرایب مربوط به بردار b ، Z_{1i} ماتریس ضرایب مربوط به بردار a ، Z_{2i} ماتریس ضرایب مربوط به بردار m بوده و $i = 1, \dots, 4$ به ترتیب، وزن بدن در سن یک‌روزگی، هشت‌هفتگی، ۱۲ هفتگی و وزن

۱ - سن مرغ در زمان تولید اولین تخم که در این گله دارای میانگین ۱۵۹ روزگی می‌باشد.

نتایج و بحث

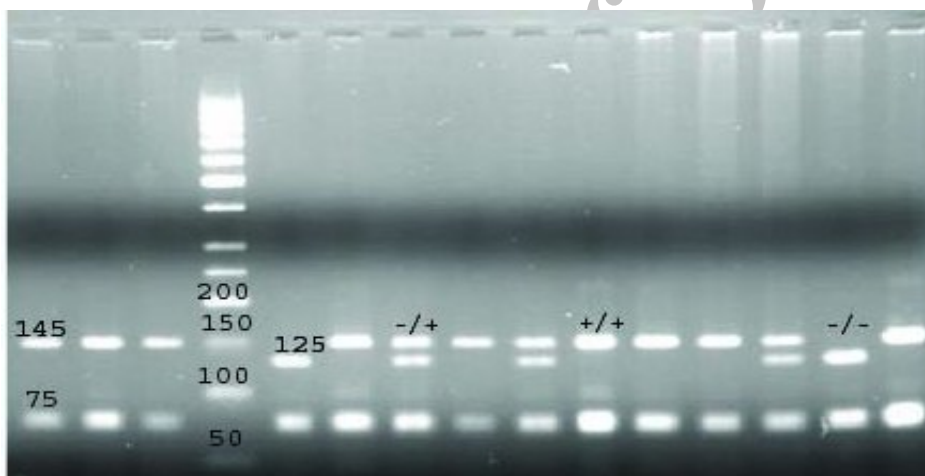
توالی تشخیص برای آنزیم *BseLI* یا *BsiYI* به صورت CCNNNNNN↓NNGG این آنزیم دارای چندین جایگاه برش روی محصول PCR بود که در نتیجه هضم آنزیمی، سه قطعه ۷۵، ۱۲۵ و ۱۴۵ نوکلئوتیدی رویت شد. عدم تطابق قطعات تکثیر شده و هضم شده به دلیل عدم مشاهده قطعه ۲۰ جفت بازی و عدم امکان تفکیک دو قطعه ۷۵ جفت بازی بود. در اثر هضم محصول PCR با آنزیم فوق، سه ژنوتیپ روی ژل آگارز مشاهده شد که فراوانی افراد دارای دو قطعه ۲۰ و ۷۵ جفت باز نسبت به دیگر افراد کمتر بود (شکل ۱).

برای تعیین رابطه بین ژنوتیپ‌های حاصل از ژن $TGF\beta_3$ با ارزش اصلاحی صفات مورد بررسی از تابع زیر استفاده شد:

$$y_i = \mu + g_i + e_i \quad (4)$$

در این مدل، y_i ارزش اصلاحی صفت مورد بررسی، μ میانگین کل، g_i اثر ژن $TGF\beta_3$ و e_i اثر تصادفی باقی‌مانده می‌باشد.

تفاوت بین میانگین‌ها با روش حداقل مربعات میانگین و آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد بررسی قرار گرفت.



شکل ۱- ژنوتیپ‌های الگوی قطعات هضم شده ژن $TGF\beta_3$ در مرغان بومی مازندران

(در ژنوتیپ +/+ قطعه ۲۹۵ جفت بازی به قطعات ۱۴۵، ۷۵ و ۲۹۵ جفت باز تقسیم شد. در ژنوتیپ -/- قطعه ۲۹۵ جفت بازی به قطعات ۱۲۵، ۷۵، ۷۵ و ۲۰ جفت باز تقسیم شد.)

هتروزیگوسیتی یکی از شاخص‌های میزان تنوع ژنتیکی در یک جمعیت می‌باشد. میزان هتروزیگوسیتی برای جایگاه $TGF\beta_3$ در این گله ۰/۲۸۲۱ برآورد شد که عدم ارتباط ژنتیکی گله با سایر گله‌ها می‌تواند سبب کاهش هتروزیگوسیتی در این جایگاه باشد (جدول ۴).

پس از آنکه محصولات PCR به وسیله آنزیم‌های برش‌دهنده، برش داده شد مطابق با الگوی مشاهده شده فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی برآورد گردید (جدول ۳). آزمون مربع کای نشان داد جایگاه ژن $TGF\beta_3$ در جمعیت مورد مطالعه در حال تعادل است ($P < 0/01$). میزان

جدول ۴ - فراوانی ژنی و ژنوتیپی حاصل از هضم آنزیمی ژن $TGF\beta_3$ در مرغان بومی مازندران هموزیگوسیتی (Ho)، هتروزیگوسیتی (He)، فراوانی مشاهده شده (O) و فراوانی مورد انتظار (e) جایگاه مورد بررسی

ژنوتیپ		آلل		فراوانی برآورد شده
-/-	+/+	+/-	-	
۰/۰۵۶۹	۰/۲۷۸۴	۰/۶۶۴۵	۰/۱۹۶۱	۰/۸۰۳۷
He(e)	He(o)	Ho(e)	Ho(o)	جایگاه ژنی
۰/۷۱۷۹	۰/۶۸۰۵	۰/۲۸۲۱	۰/۳۱۹۵	

می‌باشد، به طوری که تغییر در ژنوتیپ و یا وجود برخی از آلل‌ها در افراد می‌تواند بر ارزش‌های فنوتیپی صفات مذکور تأثیر معنی‌دار داشته باشد (جدول ۶).

نتایج حاصل از آنالیز واریانس و مقایسات میانگین با استفاده از توابع ارائه شده در جدول‌های (۵) و (۶) آمده است. نتایج بیانگر وجود ارتباط معنی‌دار بین تغییرات ژنوتیپ‌ها بین افراد و تغییرات رکورد تصحیح شده صفات

جدول ۵ - آنالیز واریانس صفات مختلف مورد بررسی در گله

صفات	ارزش‌های فنوتیپی	ارزش‌های اصلاحی	P-value
وزن بدن در یک‌روزگی	۰/۰۴*	۰/۴۸ ^{ns}	
وزن بدن در هشت‌هفتگی	۰/۰۵*	۰/۷۷ ^{ns}	
وزن بدن در ۱۲ هفتگی	۰/۶۰ ^{ns}	۰/۱۵ ^{ns}	
وزن بدن در زمان بلوغ	۱/۲۱ ^{ns}	۰/۵۵ ^{ns}	

جدول ۶ - میانگین مربعات اشتباه معیار و مقایسات میانگین ژنوتیپ‌های مختلف ژن مرتبط با صفت

صفات	ژنوتیپ		
	-/+	+/+	-/-
وزن بدن در یک روزگی (گرم)	۳۸/۴±۰/۵۵ ^a	۳۸/۲±۰/۳۲ ^a	۳۵/۴±۱/۰۷ ^b
وزن بدن در هشت هفتگی (گرم)	۵۳۴±۱۸/۷۴ ^a	۵۰۲±۱۰/۱۹ ^a	۴۴۹±۳۲/۳۳ ^b

هفتگی، عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های +/+ و +/- را نشان داد، اما میانگین این صفت در افراد دارای ژنوتیپ‌های +/+ و +/- بیشتر از میانگین افراد دارای ژنوتیپ‌های -/- بود ($P < 0.05$). این اختلاف می‌تواند ناشی از متفاوت بودن نژاد مرغ‌ها باشد. در هر دو صفت وزن بدن در یک روزگی و هشت هفتگی افراد هتروزیگوت دارای میانگین بالاتری بودند، البته اختلاف معنی‌داری با میانگین افراد +/+ نداشتند. این نتیجه نشان می‌دهد که افراد هتروزیگوت دارای شایستگی بیشتری می‌باشند. به هر حال نشانگر مورد مطالعه به همراه دیگر فرم‌های آللی ثبت شده در جایگاه ژنی $TGF\beta_3$ می‌تواند در درک هرچه بهتر کنترل ژنتیکی نرخ رشد در جوجه‌ها مفید باشد. در نتیجه تحقیقات بیشتر برای آشکارسازی هرچه بهتر نقش تداخل فرم‌های مختلف آللی در این جایگاه نشانگری ضروری است.

تشریح و قدردانی

بدین وسیله از آقایان سید ضیاءالدین میرحسینی و عبدالاحد شادپرور و محمد علی روحی (مسئول آزمایشگاه ژنتیک دام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری)، محمدرضا کوهی (مسئول مرکز اصلاح نژاد مرغ بومی استان مازندران) و بنیامین دلیرصفت (مسئول محترم آزمایشگاه ژنتیک و بیوتکنولوژی دانشکده پرریس صومعه‌سرا) قدردانی می‌گردد.

References

1. Burt DW and Law AS (1994) Evolution of the transforming growth factor-beta superfamily. Program Growth Factor Research. 5: 99-118.
2. Burt DW and Paton IR (1992) Evolutionary origins of the transforming growth factor-beta gene family. DNA Cell Biological. 11: 497-510.
3. Burt DW, Paton IR and Dey BR (1991) Comparative analysis of human and chicken transforming growth factor-beta 2 and -beta3 promoters. Endocrinal. 7: 175-83.

افزایش و یا کاهش اثر آلل‌های ژن‌های کاندید بر نرخ ارزش اصلاحی صفات در گزارشات مختلفی آمده است (۱۰). اختلاف بین ارزش‌های اصلاحی افراد در یک صفت می‌تواند ناشی از عمل جهش روی ژن‌های مؤثر بر صفت مورد نظر باشد (۸). رابطه بین اثر ژنوتیپ‌ها و ارزش‌های اصلاحی صفات مورد بررسی در تحقیق حاضر معنی‌دار نبود. این نتیجه را می‌توان به دلیل عدم وجود جهش‌های مؤثر در نواحی بررسی شده از ژن، عدم توانایی آنزیم برش‌دهنده در شناسایی محل جهش و یا عدم تأثیر ژن کاندید بر صفات مورد بررسی دانست.

در مطالعات قبلی معنی‌دار بودن رابطه چندشکلی ژن $TGF\beta_3$ و صفت وزن بدن در چهار و هشت هفتگی گزارش شده است، به طوری که مقایسات میانگین وزن بدن در دو و چهار هفتگی نشان داد که وزن افراد دارای ژنوتیپ هتروزیگوت در مقایسه با افراد دارای ژنوتیپ +/+ بیشتر ولی تفاوت میانگین ژنوتیپ -/- با میانگین‌های دو ژنوتیپ +/- و +/+ معنی‌دار نبود (۷). در تحقیق فوق مشخص شد تفاوت وزن شش و هشت هفتگی افراد دارای ژنوتیپ -/- و +/- معنی‌دار نبود، اما میانگین وزن بدن آن‌ها بیشتر از افراد دارای ژنوتیپ +/+ بود (۷). در تحقیق حاضر، نیز رابطه وزن بدن در هشت هفتگی و یک روزگی با ژنوتیپ‌های حاصل معنی‌دار بود (جدول ۶). در تحقیق حاضر، در مقایسه اثر بین ژنوتیپ‌های حاصل از ژن فاکتور مؤثر بر رشد بتا-۳ بر صفات وزن بدن در یک روزگی و هشت

- 4 . Congburn LA, Burnside J and Scanes CG (2000) *Sturkie Avivan Physiology*. 5th Ed. Physiology of growth and development., Academic Press. 656 p.
- 5 . Groenen MA, Cheng HH, Bumstead H, Benkel BF, Briles WE, Burke T, Burt DW, Crittenden LB, Dodgson J, Hillel J, Lamont S, Ponce de leon A, Soller M, Takahashi H and Vignal A (2000) A consensus linkage map of the chicken genome. *Genome Research*. 10: 137-147.
- 6 . Gu ZL, Zhang HF, Zhu DH and Li H (2002) Single nucleotide polymorphism analysis of chicken myostatin gene in different chicken lines. *Yi Chuan Xue bao*. 29: 599-606.
- 7 . Li H, Deeb N, Zhou H, Michell AD, Ashwell CM and Lamont SJ (2003) Chicken quantitative trait loci for growth and body composition associated with transforming growth factor- β genes. *Poultry Science*. 82: 347-356.
- 8 . Madeja Z, Adamowicz T, Chmurzynska A, Jankowski T, Melonek J, Switonski M and Strabel T (2004) Effect of leptin gene polymorphisms on breeding value for milk production traits. *Dairy Science*. 87: 3925-3927.
- 9 . Meyer K (2000) DF REML version 3.0 program to estimate variance components by restricted maximum likelihood using derivative-free algorithm. Users note Animal genetics and breeding unit. University of New England, Armidable, NSW, Australia. 84 p.
- 10 . Olenski K, Kaminski S, Szyda J and Cieslinska A (2010) Polymorphism of the beta-casein gene and its associations with breeding value for production traits of Holstein-Frisian bulls. *Livestock Science*. 131: 137-140.
- 11 . Piek E, Heldin CH and Dijke PT (1999) Specificity diversity, and regulation in TGF β superfamily signaling. *FASEB*. 13: 2105-2124.
- 12 . SAS Institute Inc. (2006) SAS/STAT. Users guide. Version 9.1.
- 13 . Snaders EJ and Wride MA (1997) Roles for growth and differentiation factors in avian embryonic development. *Poultry Science*. 76: 111-117.
- 14 . Wall NA and Hogan BL (1994) TGF-beta genes in development. *Current Opinion in Genetics & Development*. 4: 517-522.
- 15 . Yeh FC and Yang R (1999) POPGEN Version 1.31 program to Population genetic analysis. Quick user guide. University of Alberta, Center for International Forestry Research. 28 p.
- 16 . Zhou H and Lamont SJ (2003) Association of transforming growth factor beta genes with quantitative trait loci for antibody response kinetics in hens. *Animal Genetic*. 34: 275-82.

Effect of $TGF\beta_3$ loci on phenotypic data and breeding value of body weight traits in Mazandaran native fowls

B. Enayati ^{1*} and G. Rahimi ²

(E-mail: bkenayati@gmail.com)

Abstract

The transforming growth factor β ($TGF\beta$) subfamily is one of the most important groups of genes that are involved in development of growth and cell differentiation. In order to detect polymorphism in $TGF\beta_3$ loci, blood samples were collected randomly from 160 breeder hens of Mazandarn native fowls breeding station. DNA was extracted using modified salting out method and a DNA fragment of 295 bp from $TGF\beta_3$ loci was amplified (part of intron 3, exon 4 and small part of intron 4) using a specific primer pairs. The digested amplified fragment with *BsiYI* enzyme revealed two + and – alleles with the frequency of 0.8037 and 0.1961, respectively. The frequencies of "+/+," "+/-" and "-/-" genotypes were estimated at 0.6645, 0.2784 and 0.0569, respectively in studied population. The statistical analysis showed that the existence of one + allele in the genotypes significantly ($P \leq 0.05$) increased the means of body weight at one day and eight week of age in comparison with "-/-" genotype which indicates the importance of this allele in body weight gain in chickens. It can be concluded that the studied marker site, together with the other documented variants in $TGF\beta_3$ locus, can be very useful to obtain a better understanding of the genetic control of growth rate in chickens.

Keywords: Body weight, Mazandaran native fowls, Phenotypic value, Polymorphism, $TGF\beta_3$ gene

1 - Graduated M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of agriculture, University of Mazandaran, Sari – Iran

(Corresponding Author*)

2 - Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Fishery, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari - Iran