

## ارتباط چندشکلی ژن *Pit-I* با صفات مرتبط با شیر در گاوهای نر هلستاین ایران

- ابوالفضل قربانی\*: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران
- سعید پرنعمت: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
- ناصر ماهری سیس: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران
- مهدی تقی نژاد رودبند: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۸

### چکیده

این تحقیق به منظور تعیین ارتباط چندشکلی ژن عامل رونویسی خاص هیپوفیز یک (*Pit-I*) با ارزش‌های ژنتیکی صفات تولید شیر در گاوهای هلستاین ایران انجام گرفت. بعد از دریافت اطلاعات ارزش‌های اصلاحی از مراکز اصلاح نژاد کشور، با استفاده از نمونه‌های خون ۱۱۰ رأس گاو نر پروف شده یا در انتظار پروف از دو مرکز اصلاح نژاد شمال غرب و تهران، ژنوتیپ افراد با روش هضم آنزیمی (PCR-RFLP) و آنزیم محدودالانتر *HinfI* برای جایگاه موجود در آگرون ششم تعیین گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از مدل مناسب و نرم‌افزار SAS انجام گرفت. در این بررسی دو الل (برش‌یافته G و برش‌نیافته A) و سه ژنوتیپ مشاهده شد به طوری که الل *HinfI*+(G) و ژنوتیپ GG فراوان‌ترین بودند. تغییرات فراوانی الی و ژنوتیپی در طی سال‌های مختلف تولد حیوانات روند مشخصی را نشان نداد و در اکثر سال‌ها برتری با الل G بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ارتباط چندشکلی در جایگاه *Pit-I-HinfI* با تغییرات ارزش ژنتیکی صفات تولید شیر، تولید چربی، تولید پروتئین، درصد چربی و درصد پروتئین معنی‌دار نیست ( $p > 0.05$ ). جایگزینی الی نشان داد که در صورت تغییر الل G به A تاثیر معنی‌داری در هیچ‌یک از صفات مورد مشاهده نخواهد شد. به نظر می‌رسد برای استفاده از چندشکلی ژن *Pit-I* در بهبود ژنتیکی صفات تولید شیر، نیاز است تحقیقات بیش‌تری انجام شود.

**کلمات کلیدی:** چندشکلی، *Pit-I*، هلستاین، صفات تولیدی



## مقدمه

نشان می‌دهد. نظر به کارهای اندک انجام در مورد ارتباط این جایگاه با صفات تولیدی، این تحقیق با اهداف تعیین چندشکلی فاکتور رشد ۱ (*Pit-I*)، بررسی ارتباط چندشکلی آن با ارزش اصلاحی برآورد شده در صفات تولیدی (تولید شیر، درصد چربی، درصد پروتئین، تولید چربی و تولید پروتئین) برای گاوهای نر هلشتاین ایران و برآورد میزان متوسط اثر جایگزینی آلی در جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه طراحی و اجرا شد.

## مواد و روش‌ها

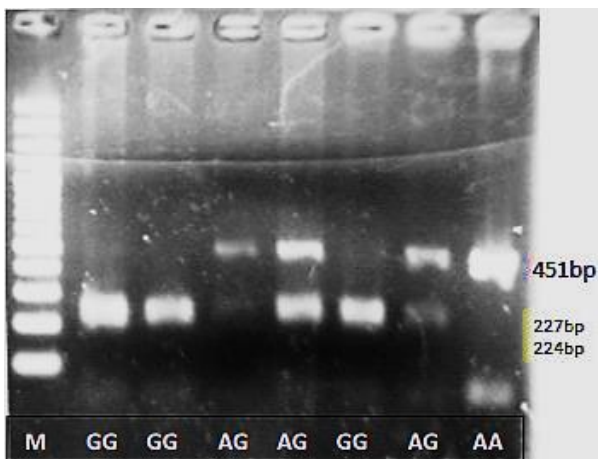
در مجموع از ۱۱۰ راس گاو نر هلشتاین پروف و تحت پروف که در دو مرکز اصلاح نژاد دام شمال غرب (تبریز) و تهران (جاهد کرج)، نمونه خون از طریق وریدوداجی اخذ و نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. استخراج از خون تام با استفاده از روش فنل-کلروفورم تغییر یافته انجام و برای تعیین غلظت و کیفیت DNA از ژل آگارز یک درصد استفاده شد. چندشکلی قطعه ۴۵۱ جفت‌بازی از اگزون ششم ژن *Pit-I* با استفاده از پرایمرهای رفت 3' AAACCATCATCTCCCTTCTT 5' و برگشت 3' AATGACAATGTGCCTTCTGAG 5' انجام شد (Sagour و همکاران، ۱۹۹۶). برنامه دمایی بهینه برای تکثیر این قطعه شامل مراحل واسرشت اولیه (۹۴/۵، ۱۰ دقیقه)، واسرشت (۹۵، ۶۰ ثانیه)، اتصال آغازگرها (۵۶، ۶۰ ثانیه)، توسعه (۷۲ درجه ۶۰ ثانیه) و بسط نهایی (۷۲ درجه به مدت ۱۲۰ ثانیه) بود و تعداد چرخه ۳۵ عدد در نظر گرفته شد. برای حصول اطمینان از کیفیت محصول PCR، محصولات حاصل بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز و سپس رنگ‌آمیزی و عکس‌برداری شد. پس از اطمینان از کارکرد بهینه محصولات PCR، با استفاده از آنزیم *Hinf-I* (فرمنتاز، فرانسه) مورد برش قرار گرفت. پس از اختلاط تمام اجزای واکنش به مدت ۲۴ ساعت (Overnight) در دمای ۳۷ درجه قرار داده شد. پس از این مدت با استفاده از ژل آگارز ۳ درصد، محصولات حاصل از برش، الکتروفورز شدند. در مرحله آخر با استفاده از اتیدیوم بروماید، ژل رنگ‌آمیزی و عکس‌برداری شد.

**تجزیه و تحلیل آماری:** در این تحقیق از مقادیر ارزش اصلاحی که با روش بهترین پیش‌بینی ناریب خطی (BLUP) در مرکز اصلاح نژاد دام کشور برآورد شده بودند، استفاده شد. مدل حیوانی مورد استفاده در این مرکز، حاوی اثرات ثابت سال- فصل- گله، سن گاو و اثرات تصادفی حیوان بود. برای جدا کردن گاوهای نر پروف و غیرپروف، میزان اعتمادپذیری برآوردهای ارزش اصلاحی حیوانات نیز از مرکز اصلاح نژاد اخذ شد. سال تولد گاوهای نر نیز برای بررسی روند تغییرات ارزش اصلاحی در طی سال‌های ۱۳۶۸ تا ۱۳۹۵ و بررسی تغییر فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی در طی این سال‌ها در مدل وارد شد. برای

اصلاح نژاد با افزایش بازده تولید و کاهش میزان مصرف خوراک و استفاده کارآمدتر از پسماندهای کشاورزی خدمات شایسته و مفیدی را به حفظ و پایداری محیط زیست نموده است. تا به امروز، بیش‌ترین پیشرفت ژنتیکی برای صفات کمی در حیوانات اهلی از طریق انتخاب بر روی فنوتیپ یا براساس ارزش‌های اصلاحی (ژنتیکی) برآورد شده از روی فنوتیپ و بدون آگاهی از تعداد ژن‌های مؤثر بر صفت یا میزان تأثیر هر کدام از ژن‌ها انجام شده است (Lucy و همکاران، ۱۹۹۸). موفقیت در روش‌های ژنتیک کمی بدین معنی نیست که پیشرفت ژنتیکی از طریق روش‌های دیگر مثل ژنتیک مولکولی قابل افزایش نیست. ژنتیک مولکولی با مطالعه ساختار ژنتیکی افراد در سطح DNA و پرده‌برداری از سیما و ساختار ژن‌ها و شناسایی نقش دقیق آن‌ها در تولید حیوان، ابزاری برای رسیدن به پیشرفت ژنتیکی بیش‌تر است (Dekkers، ۲۰۰۴). در روش ژن کاندیدا به‌عنوان یکی از روش‌های ژنتیک مولکولی، ترکیب اطلاعات حاصل از نقشه ژنومی و اطلاعات حاصل از پایه فیزیولوژیکی یا بیوشیمیایی صفات برای شناسایی ژن‌های مؤثر بر صفات استفاده می‌شود. ژن‌های زیادی مثل ژن‌های کدکننده هورمون‌ها، فاکتورهای رشد، گیرنده‌ها، پروتئین‌های متصل‌شونده، فاکتورهای رونویسی و آنزیم‌ها بر رشد و عملکرد سیستم تولید شیر دخیل هستند. مشخص شده است که ژن عامل رونویسی خاص هیپوفیز یک (pituitary-specific transcription factor I=*Pit-I*) یکی از مهم‌ترین آن‌ها می‌باشد. این ژن دارای شش اگزون بوده به‌طوری‌که بیش‌تر حوزه‌های کاری آن به‌وسیله اگزون‌های مجزا کدگذاری می‌شوند (Theill و همکاران، ۱۹۹۲). *Pit-I* گاوسانان در کروموزم یک قرار گرفته است (Moody و همکاران، ۱۹۹۵). این ژن عضوی از حوزه POU است که شامل پروتئین‌های دخیل در تنظیم نسخه‌برداری بوده و نقش حیاتی در تمایز سلول‌ها دارند (Mangalam و همکاران، ۱۹۸۹) و در توسعه هیپوفیز و بیان هورمون‌های آن در پستانداران نقش دارد (Cohen و همکاران، ۱۹۹۷). مطالعات نشان دادند که *Pit-I* با نرخ رشد، صفات لاشه، تولید شیر، وزن تولد، وزن از شیرگیری، متوسط افزایش وزن روزانه، ضخامت چربی پشت (Yu و همکاران، ۱۹۹۶)، نسبت گوشت لخت به چربی در خوک (Stancekova و همکاران، ۱۹۹۰) و در گاو با وزن بدن، تولید شیر، پروتئین و چربی در ارتباط است (Renaville و همکاران، ۱۹۹۷). تغییرات در اینترون‌ها یا توالی‌های کناری می‌تواند به‌عنوان نشانگرهای بالقوه ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفته و به بهبود ژنتیکی در جامعه کمک کند (Mitra و همکاران، ۱۹۹۵؛ Falaki و همکاران، ۱۹۹۶). متوسط اثر جایگزینی آلی میزان تغییر در میانگین صفات در اثر تغییر یک الل به الل در یک جایگاه را



(*HinfI* -/-) و سه قطعه ۴۵۱، ۲۲۷ و ۲۲۴ جفت باز برای ژنوتیپ هتروزیگوت (*HinfI* +/-) می شود.



شکل ۱ محصولات هضم (ژنوتیپ‌های مختلف همراه با مارکر (M)) قطعه ۴۵۱ جفت باز اگزون ششم ژن Pit-I با آنزیم *HinfI* در روی ژل آگارز ۳ درصد

جدول ۱: فراوانی مشاهده شده و مورد انتظار ژنوتیپی، فراوانی آلی، مقدار کای مربع محاسبه شده و سطح احتمال برای چندشکلی

ژن Pit-I-HinfI

ژنوتیپ	AA	AG	GG
تعداد مشاهده شده	۱	۳۸	۶۳
فراوانی مشاهده شده	۰/۰۰۹۸	۰/۳۷۲۵	۰/۶۱۷۶
فراوانی مورد انتظار	۰/۰۳۸۴	۰/۳۱۵۳	۰/۶۴۶۳
فراوانی آلل	A=۰/۱۹۷	G=۰/۸۰۳	
آماره کای مربع محاسبه شده	۳/۳۸	ارزش بحرانی جدول ۳/۸۴۱	

فراوانی آلل A و G در نمونه مورد مطالعه به ترتیب برابر ۰/۱۹۷ و ۰/۸۰۳ و فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AG و GG به ترتیب برابر ۰/۰۰۹۸، ۰/۳۷۲۵ و ۰/۶۴۶۳ بود. نسبت آلل A به G در جامعه گاوهای هلشتاین ایران در حدود ۱ به ۴ است که در مورد نسبت ژنوتیپ AA به سایر ژنوتیپ‌ها، این نسبت خیلی کم تر (۱ به ۱۰۰۰) می باشد (جدول ۱). مقایسه تعداد افراد مشاهده شده و مورد انتظار برای هر ژنوتیپ با استفاده از آزمون کای مربع (χ<sup>2</sup>) نشان داد که مقدار آماره محاسبه شده (χ<sup>2</sup>=۳/۳۸)، کوچک تر از ارزش بحرانی جدول کای مربع (۳/۸۴) بوده و نشان داد که توزیع ژنوتیپ‌ها در حالت تعادل هاردی-وینبرگ قرار دارد (p>۰/۰۵). مقایسه فراوانی به دست آمده در این بررسی با سایر نتایج گزارش شده در مورد هلشتاین مطابقت دارد (جدول ۲). ولی تضادهایی را با سایر نژادهای گاو نشان می دهد.

آزمون تعادل هاردی-وینبرگ در جامعه از آزمون کای مربع (χ<sup>2</sup>) استفاده شد. اثر ژنوتیپ‌های مختلف این جایگاه‌های ژنی بر ارزش‌های اصلاحی صفات تولید شیر با استفاده از روش حداقل مربعات رویه GLM نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱، ۲۰۰۲) آنالیز شد. از آن جایی که ارزش‌های اصلاحی، بهترین برآوردهای قابل دسترس از ژنوتیپ افزایشی حیوانات هستند، هیچ اثر محیطی به جز سال تولد گاوهای نر (جهت لحاظ کردن روند ژنتیکی) در مدل گنجانده نشد. مدل استفاده شده برای بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های هر جایگاه با صفات تولیدی مرتبط با شیر به صورت زیر بود:  $EBV_{ijk} = \mu + year_i + G_j + e_{ijk}$   $EBV_{ijk}$  = ارزش اصلاحی برای صفات تولیدی شیر (تولید شیر، تولید چربی، تولید پروتئین، درصد چربی و درصد پروتئین شیر)،  $\mu$  = میانگین حداقل مربعات ارزش‌های اصلاحی صفات تولیدی شیر،  $year_i$  = اثر سال تولد گاو نر (برای لحاظ کردن روند ژنتیکی)،  $G_j$  = اثر ژنوتیپ (۱، ۲، ۳)،  $e_{ijk}$  = اثر تصادفی باقی مانده یا خطا. متوسط اثر جایگزینی آلی از طریق اختصاص کدهایی برای ژنوتیپ‌ها (صفر برای ژنوتیپ هموزیگوت دارای کمترین فراوانی در جایگاه مورد نظر، ۱ برای ژنوتیپ هتروزیگوت و ۲ برای ژنوتیپ دارای بیشترین فراوانی در جایگاه مورد مطالعه) برآورد گردید. کدهای اختصاص داده شده، نشان دهنده تعداد آلل‌های مطلوب در چندشکلی مورد مطالعه می باشد. براساس روش پیشنهاد شده توسط Mackay و Falconer (۱۹۹۶)، اگر به جای ژنوتیپ‌ها در مدل بالا، کدهای ژنوتیپی قرار داده شود، ضریب رگرسیون برآورد شده در مدل آماری فوق برای کدهای ژنوتیپی، متوسط اثر جایگزینی آلی را نشان می دهد.

## نتایج

در این بررسی چندشکلی، قطعه ۴۵۱ جفت باز از اگزون ششم ژن Pit-I با استفاده از روش RFLP و آنزیم *HinfI* مورد بررسی قرار گرفت. جایگاه شناسایی و برش آن در توالی نوکلئوتیدی ژنوم به صورت 3'...NTC...A ↓A NTC...G...۵' می باشد. جهش ترانسیشن (Transition) A←G در موقعیت ۱۲۵۶ ژن Pit-I (اگزون ششم)، یک جایگاه برش برای آنزیم *HinfI* را از بین می برد. توالی هم جوار موقعیت ۱۲۵۶ در اگزون ششم به صورت GACAAGCCTG/AAATC می باشد که وجود باز گوانین (G) در توالی نوکلئوتیدی، امکان برش را برای آنزیم فراهم کرده و وجود آدنین (A) مانع از هضم قطعه تکثیر شده توسط آنزیم می شود. بنابراین، هضم محصول ۴۵۱ جفت باز تکثیر شده، با آنزیم *HinfI* باعث ایجاد دو قطعه ۲۲۷ و ۲۲۴ جفت باز برای ژنوتیپ GG (*HinfI*+/+)، یک قطعه برش نیافته (۴۵۱ جفت باز) برای ژنوتیپ هموزیگوت AA

جدول ۲: فراوانی الل‌های A و G در نژادهای مختلف برای جایگاه

منبع	Pit-I -HinfI		نژاد (breed)
	فراوانی اللی		
	G	A	
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۱	۰۰	ناگوری
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۹۹۳	۰/۰۱۷	کانگیم
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۹۸	۰/۰۲	قیر
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۹۷۵	۰/۰۲۵	خیلر
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۹۷۲	۰/۰۲۸	کانداری قرمز
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۹۷	۰/۰۳	کانکرج
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۹۶۴	۰/۰۳۶	آمریتماها
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۹۵۲	۰/۰۴۸	انگول
Mattos, ۲۰۰۰	۰/۹۵	۰/۰۵	قیر
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۹۴۶	۰/۰۵۴	دنونی
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۹۴۴	۰/۰۵۶	راتی
Beauchemin و همکاران، ۲۰۰۶	۰/۹۴	۰/۰۶	برهمن
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۹۳۸	۰/۰۶۲	مواتی
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۹۳۲	۰/۰۶۸	دانگی
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۹۱	۰/۰۹	محللی اردن
Moody و همکاران، ۱۹۹۵	۰/۹	۰/۱	برهمن
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۹	۰/۱	گل بویه
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۸۸۶	۰/۱۱۴	هارینا
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۸۷	۰/۱۳۰	ساهیوال
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۸۶۵	۰/۱۳۵	تاریاگر
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۸۵۶	۰/۱۴۴	گالوا
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۸۲	۰/۱۸	گل بویه
Renaville و همکاران، ۱۹۹۷	۰/۸۲	۰/۱۸	هلشتاین ایتالیایی
Zakizadeh و همکاران، ۲۰۰۷	۰/۷۹	۰/۲۱	هلشتاین
Moody و همکاران، ۱۹۹۵	۰/۷۹	۰/۲۱	هرفور
Dybus و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۷۵۷	۰/۲۴۳	سیاه و سفید لهستانی
Stasio و همکاران، ۲۰۰۲	۰/۷۵	۰/۲۵	پدیامونتس
Zwierchowski و همکاران، ۲۰۰۱	۰/۷۵	۰/۲۵	برهمن
Zwierchowski و همکاران، ۲۰۰۱	۰/۷۵	۰/۲۵	پولیش
Oprzadek و همکاران، ۲۰۰۳	۰/۷۵	۰/۲۵	سیاه و سفید لهستانی
Moody و همکاران، ۱۹۹۵	۰/۷۴	۰/۲۶	هلشتاین
Klauzinska و همکاران، ۲۰۰۰	۰/۷۴	۰/۲۶	گاو سیاه و سفید لهستانی
Zakizadeh و همکاران، ۲۰۰۷	۰/۷۳	۰/۲۷	سرابی
Zakizadeh و همکاران، ۲۰۰۷	۰/۶۶	۰/۳۴	گلپایگانی
Zakizadeh و همکاران، ۲۰۰۷	۰/۶۳	۰/۳۷	مازندرانی
Javanmard و همکاران، ۲۰۱۰	۰/۶۱۵	۰/۳۸۴	دورگ گلپایگانی* براون سویس
Zhao و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۵۶	۰/۴۴	ناینانق
Moody و همکاران، ۱۹۹۵	۰/۵۵	۰/۴۵	انگوس
Zakizadeh و همکاران، ۲۰۰۷	۰/۵	۰/۵	گرین
Renaville و همکاران، ۱۹۹۷	۰/۴۷	۰/۵۳	گاو آبی بلژیکی
Javanmard و همکاران، ۲۰۱۰	۰/۳۸	۰/۶۲	سرابی
Javanmard و همکاران، ۲۰۱۰	۰/۳۷۵	۰/۶۲۵	دشت یاری
Tavakolian و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۲۷	۰/۷۳	گلپایگانی
Javanmard و همکاران، ۲۰۱۰	۰/۲۵	۰/۷۵	گلپایگانی
Javanmard و همکاران، ۲۰۱۰	۰/۲۳	۰/۷۷	تالشی
Tavakolian و همکاران، ۲۰۰۴	۰/۲۳	۰/۷۷	سرابی
Javanmard و همکاران، ۲۰۱۰	۰/۱۷۳	۰/۸۲۶	مازندرانی
Javanmard و همکاران، ۲۰۱۰	۰/۰۸	۰/۹۲	سیستانی

با بررسی فراوانی‌های مندرج در جدول ۳ می‌توان نتیجه گرفت که تنوع بسیاری بالایی برای فراوانی اللی در بین نژادها وجود دارد به‌طوری‌که فراوانی الل G از یک در نژاد ناگوری تا ۰/۰۸ در نژاد سیستانی تغییر می‌کند. در مقایسه بین نژادهای مناطق گرمسیری (قیر، ناگوری و...) و نژادهای اصلاح شده اروپایی (هلشتاین، براون سویس و...) مشاهده می‌شود که فراوانی الل G در نژادهای مناطق گرمسیری بالاتر است. اما مقایسه نتایج به‌دست آمده در این تحقیق با نتایج نژادهای بومی نظیر سرابی، نجدی، گلپایگانی و غیره نشان می‌دهد که فراوانی‌ها اللی تغییرات بالایی را نشان می‌دهند به‌طوری‌که فراوانی الل A از ۰/۲۷ در سرابی تا ۰/۹۲ در سیستانی تغییر می‌کند. فراوانی به‌دست آمده در این بررسی نزدیکی بالایی با نژاد سرابی را نشان می‌دهد. اما به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که نژادهایی با تیپ شیری نسبت فراوانی اللی A به G حدود ۰/۲۵ است در حالی که در نژادهای بومی و محلی این نسبت پایین‌تر (صفر در ناگوری) و یا بالاتر (۰/۹۲ در سیستانی) می‌باشد. البته حجم و نحوه نمونه‌گیری را در تحقیقات مختلف نباید از نظر دور نگه داشت. این نتایج نشان می‌دهد شرایط اقلیمی مناطق زیست نژادهای مختلف بر فراوانی الل‌های این جایگاه به‌شدت تاثیرگذار بوده است. از طرف دیگر با مقایسه پایه‌های اجدادی این نژادها می‌توان دریافت که در نتیجه انتخاب طبیعی و مصنوعی بین نژادهای مختلف از یک سو و از سوی دیگر محل پیدایش و گسترش این نژادها نشان داد که الل‌های G و A به‌ترتیب مشخصه‌هایی برای نژادهای با پایه *Bos taurus* (تولید بالا) و *Bos indicus* (مقاومت به شرایط سخت محیطی) شده است.

**ارتباط چندشکلی Pit-I-HinfI با صفات تولیدشیر:** به‌دلیل تعداد کم افراد دارای ژنوتیپ AA، در بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های مختلف با صفات تولید شیر، از این ژنوتیپ چشم‌پوشی گردید. مقایسه میانگین حداقل مربعات ژنوتیپ‌های مختلف چندشکلی *Pit-I-Hinf-I* در آگرون ششم ژن (جدول ۳) نشان داد که افراد دارای ژنوتیپ GG، ارزش اصلاحی تولید شیر، تولید چربی و تولید پروتئین شیر بیش‌تری نسبت به افراد دارای ژنوتیپ AG داشتند. ولی در مورد درصد پروتئین و درصد چربی، افراد دارای ژنوتیپ AG، ارزش اصلاحی بیش‌تری نسبت به ژنوتیپ GG دارا بودند. در مورد صفت تولید شیر، تولید چربی و تولید پروتئین افراد دارای ژنوتیپ GG نسبت به AG ۹۰/۶۴ کیلوگرم (۳/۱ درصد)، ۱/۱۳۶ کیلوگرم (۱/۶۲ درصد) و ۱/۵۴ کیلوگرم (۲/۲ درصد) برتری تولید داشتند در حالی که برای صفات درصد چربی و درصد پروتئین افراد دارای ژنوتیپ AG نسبت به ۰/۰۲ درصد (۲/۳۲ درصد) و ۰/۰۸ درصد (۹ درصد) برتر بودند ولی اختلاف بین میانگین دو ژنوتیپ در هیچ‌یک از صفات معنی‌دار نبود.



**بحث**

کیلوگرم، ۲/۱۲ کیلوگرم، ۲/۱۵ کیلوگرم، ۰/۰۱ درصد و ۰/۰۰۴۲ درصد می باشد، ولی این اثر، برای هیچ یک از صفات معنی دار نبود.

**جدول ۴: متوسط اثرات جایگزینی آلی برای چندشکلی Pit-I و Hinfl برای ارزش اصلاحی صفات تولید شیر**

صفت	ضریب تابعیت*	خطای استاندارد	سطح احتمال
تولید شیر	۹۶/۹۰	۲۱۲/۹۸	۰/۶۵
تولید چربی	۲/۱۲	۵/۱۶	۰/۶۸
تولید پروتئین	۲/۱۵	۴/۸۴	۰/۶۶
درصد چربی	۰/۰۱	۰/۰۶۴	۰/۸۷
درصد پروتئین	-۰/۰۰۴۲	۰/۰۴۲	۰/۹۱

\*: ضریب تابعیت، نشان دهنده متوسط اثر جایگزینی آلی می باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که گوناگونی آلی در توالی ساختمانی و تنظیم کنندگی از چند نقطه نظر حایز اهمیت است. اولاً چندشکلی ژنتیکی با مشخصات جمعیت مرتبط بوده و می تواند برای مشخص کردن وقایع هیبریداسیون های (اختلاط بین گونه ای) احتمالی در گذشته کمک کند. ثانیاً اثرات مستقیم و غیرمستقیم بر روی صفات تولیدی و عملکردی دارد. به نظر می رسد برای استفاده از اطلاعات ژنومی در برآورد ارزش اصلاحی و ارزیابی دام های تحت اصلاح وجود حجم بالایی اطلاعات از جایگاه های مختلف دخیل در عملکرد صفات ضروری به نظر می رسد.

**تشکر و قدردانی**

این مقاله مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد آقای سعید پر نعمت با راهنمایی نویسنده مسئول می باشد. لازم می داند از همکاری مراکز اصلاح نژاد شمال غرب کشور (شیخ حسن) و جاهد کرج و نیز دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر به خاطر همکاری های ارزشمندشان تقدیر و تشکر نماید.

**منابع**

1. **Beauchemin, V.R.; Thomas, M.G.; Franke, D.E. and Silver, G.A., 2006.** Evaluation of DNA polymorphisms involving growth hormone relative to growth and carcass characteristics in brahman steers. Genetic Molecular Research. Vol. 5, PP: 438-447.
2. **Carrijo, S.M.; Alencar, M.M.D.; Tora, F.L.G. And Regitano, L.C.D.A., 2008.** Association of *Pit1* genotypes with growth traits in canchim cattle. Scintio. Agricola (Piracicaba, Graz.). Vol. 65, No. 2, pp: 116-121.
3. **Cohen, L.E.; Wondisford, F.E. and Radovick, S., 1997.** Role of *Pit1* in the gene expression of growth hormone, prolactin, and thyrotropin. Endocrinology and Metabolism Clinics of North America. Vol. 25, pp: 523-540.

اکثر مطالعات انجام یافته بر روی اگزون ششم ژن *Pit-I* در راستای به دست آوردن فراوانی در نژادهای مختلف و یافتن ارتباط آن با صفات افزایش وزن و کیفیت لاشه بوده است. اما نتایج گزارش شده توسط سایر محققین قبلی در ارتباط با تولید شیر مشابهت و تضادهایی را با تحقیق حاضر نشان می دهد. Renaville و همکاران (۱۹۹۷) ارتباط چندشکلی *Pit-I-Hinfl* را با صفات مختلف در گاوهای شیری هلشتاین بررسی و گزارش نمودند که ارتباط این چندشکلی با صفات تولید شیر معنی دار بوده و آل A را به عنوان افزایش دهنده تولید شیر و پروتئین و کاهش دهنده چربی و دارای اثرات مثبت بر روی صفات تیپ معرفی کردند که با نتایج بررسی حاضر تناقض دارد. Zakizadeh و همکاران (۲۰۰۷) ارتباطی بین چندشکلی *Pit-I-Hinfl* و صفات تولید شیر در گاوهای هلشتاین و گاوهای بومی گزارش نکردند. هم چنین Dybus و همکاران (۲۰۰۴) ارتباط این چندشکلی را با صفات تولید شیر در گاوهای سیاه و سفید لهستانی در مراحل مختلف شیردهی بررسی کرده و تاثیر معنی داری از این چندشکلی را با صفات تولید شیر گزارش نمودند ولی در بررسی میانگین صفات نتایج آن ها در توافق با نتایج مطالعه حاضر بود. اما در نتایج این محققین برتری در همه صفات در تمام مراحل با ژنوتیپ AA بوده و آل A را برای این صفات مطلوب گزارش نمودند که در تضاد با نتایج مطالعه حاضر است. تفاوت نتایج ممکن است در نتیجه تفاوت های نژادی، تعداد دام های مورد بررسی، کشور محل حضور دام ها، دقت برآورد ارزش های اصلاحی، فراوانی آلی و ژنوتیپی و سایر عوامل می تواند باشد.

**جدول ۳: میانگین حداقل مربعات، خطای استاندارد و سطح احتمال ژنوتیپ های مختلف چندشکلی Hinfl-I در اگزون ششم ژن Pit-I برای ارزش اصلاحی صفات تولید شیر**

صفت	ژنوتیپ	میانگین	خطای استاندارد	سطح احتمال
تولید شیر	AG	۲۹۵۵/۰۳۶	۱۴۱/۰۵	۰/۷۴۹
	GG	۳۰۴۵/۶۷۸		
تولید چربی	AG	۷۰/۰۲۶	۳/۴	۰/۸۶۶
	GG	۷۱/۱۶۲		
تولید پروتئین	AG	۷۱/۱۷۱	۳/۳۸	۰/۸۱۴
	GG	۷۲/۷۴۵		
درصد چربی شیر	AG	-۰/۸۳۵	۰/۰۳	۰/۶۲۹
	GG	-۰/۸۶۴		
درصد پروتئین شیر	AG	-۰/۸۹۳	۰/۰۴۵۳	۰/۹۳۱
	GG	-۰/۹۰۱		

برآورد متوسط اثرات جایگزینی آلی در این چندشکلی نشان داد که جایگزین شدن آل G به جای آل A برای صفات تولید شیر، تولید چربی، تولید پروتئین، درصد چربی و درصد پروتئین به ترتیب برابر ۹۶/۹۰



- milk yield, and conformation traits for Italian Holstein Friesian Gulls. *J. Dairy Science*. Vol. 80, pp: 3431-3438.
۱۹. **Sagour, M.P.; Lin, C.Y.; Lee, A.J. and Maclister, A.J., 1996.** Association between milk protein variants and genetics values of Canadian Holstein Gulls for milk yield traits. *Journal of Dairy Science*. Vol. 79, pp: 1050-1056.
  ۲۰. **Stancekova, K.; Vasicek, D.; Peskovicova, D.; Gulla, J. and KuGek, A., 1999.** Effect of genetic variability of the porcine Pituitary-specific transcription factor (*Pit1*) on carcass traits in pigs. *Animal Genetics*. Vol. 30, pp: 313-315.
  ۲۱. **Stasio, D.I.; Saratore, L. and Algera, S., 2002.** lack of association of *GHI* and *Pou1F1* gene variants with meat production in Piemontese cattle. *Animal Genetics*. Vol. 33, pp: 61-64.
  ۲۲. **Tavakolian, J.; Zeinali, S.; Azimifar, B.; Asasdzadeh, N. and Javanmard, A., 2004.** Molecular investigation of *Pit1* gene in Sarabi cattle. *Proceedings of the 1st Congress of Animal and Aquatic Science*, August 31-September 2, Iran. pp: 842-842.
  ۲۳. **Theill, L.E.; Hattori, K.; Lazzaro, D.; Castrillo, J.L. and Karin, M., 1992.** Differential splicing of the *GHF1* primary transcript gives rise to two functionally distinct homeodomain proteins. *Embo J*. Vol. 11, pp: 2261-2269.
  ۲۴. **Yu, T.P.; Rothschild, M.F.; Tuggle, C.K.; Haley, C.; Archibald, A.; Marklund, L. and Anderson, L., 1996.** *Pit1* genotypes are associated with birth weight in three unrelated pig resource families. *Journal of Animal Science*. Vol. 74, No. 1, pp 22-26.
  ۲۵. **Yu, T.P.; Tuggle, C.K.; Schmitz, C.G. and Rothschild, M.F., 1995.** Association of *Pit1* polymorphism with growth and carcass traits in pigs. *Journal of Animal Science*. Vol. 73, pp: 1282-1288.
  ۲۶. **Zakizadeh, S.; Reissmann, M.; Rahimi, G.; Nejati Javaremi, A.; Reinecke, P.; Mirae-Ashtiani, SR. and Moradi Shahrababak, M., 2007.** Polymorphism of the bovine *POU1F1* gene: allele frequencies and effects on milk production in three Iranian native breeds and Holstein cattle of Iran. *Pakistan Journal of biological science*. Vol. 10, No. 15, pp: 2575-2578.
  ۲۷. **Zhao, Q.; Davis, M.E. and Hines, H.C., 2004.** Associations of polymorphisms in the *Pit1* gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle. *Journal of Animal Science*. Vol. 82, pp: 2229-2233.
  ۲۸. **Zwierchowski, L.; Oprzadek, J.; Dymnicki, E.; Dzierzgicki, P., 2001.** An association of growth hormone,  $\alpha$ -casein,  $\beta$ -lactoglobulin, leptin and *Pit1* loci polymorphism with growth rate and carcass traits in beef cattle. *Animal Science Papers and Reports*. Vol. 19, pp: 65-77.
  ۴. **Dekkers, J., 2004** Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *Journal of Animal Science*. Vol. 82, pp: 313-328.
  ۵. **Dybus, A.; Szatkowska, I.; Czerniawska-piátkowska, E.; Grzesiak, W.; Wójcik, J.; Rzewucka, E. and Zych, S., 2004.** *PIT1-HinfI* gene polymorphism and its associations with milk production traits in polish Black-and-White cattle. *Archives Animal Breeding*. Vol. 47, No. 6, pp: 557-563.
  ۶. **Falaki, M.; Gengler, N.; Sneyers, M.; Prandi, A.; Massart, S.; Formigoni, A.; Gurny, A.; Portetelle, D. and Renaville, R., 1996.** Relationships of polymorphism for growth hormone and growth hormone receptor genes with milk production traits for Italian Holstein-Friesian Gulls; *Journal of Dairy Science*. Vol. 79, pp: 1446-1453.
  ۷. **Falconer, D.S. and Mackay, T.F.C., 1996.** Introduction to Quantitative Genetics. 4th Edition, Prentice Hall, Essex.
  ۸. **Javanmard, A.; Asadzadeh, N. and Sarhadi, F., 2010.** DNA Polymorphism of *Govine Pituitary-Specific Transcription Factor and Leptin Gene* between Iranian *bos indicus* and *bos taurus* Cattle. *American J of Agricultural and biological Sciences*. Vol. 5, No. 3, pp: 282-285.
  ۹. **Klauzinska, M.; Zwierzchowski, I.; Siadkowska, E.; Szymanowska, M.; Grochowska, R. and Zurkowski, M., 2000.** Comparison of selected gene polymorphisms in Polish Red and Polish black-and-White cattle. *Animal Science Papers and Reports*. Vol. 18, pp: 107-116.
  ۱۰. **Li, S.; Crenshaw, E.G.; Rawson, E.J.; Simmons, D.M.; Swanson, L.W. and Rosenfeld, M.G., 1990.** Dwarf locus mutants lacking three Pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene *Pit1*. *Nature*. Vol. 347, pp: 528-533.
  ۱۱. **Lucy, M.C.; Johnsson, G.S.; Shibuya, H.; Boyd, C.K.; Herring, W.O. and Werin, M., 1998.** Rapid communication: Polymorphic (GT) microsatellite in the bovine somatotropin receptor gene promoter. *Journal of Animal Science*. Vol. 76, pp: 2209-2210.
  ۱۲. **Mangalam, H.J.; Albert, V.R.; Ingraham, H.A.; Kapiloff, M.; Wilson, L.; Nelson, C.; Elsholtz, H. and Rosenfeld, M.G., 1989.** A Pituitary POU-domain protein, *Pit1* activates *Goth* growth hormone & prolactin promoters transcriptionally. *Genes & Development*. Vol. 3, pp: 946-958.
  ۱۳. **Mattos, K.K., 2000.** Polimorfismos de DNA nos genes GGH e PIT1 em populações zeGúinas e mestiças com aptidão leiteira e sua associação com características de produção. São Carlos: UFSCar, Tese (Doutorado). 92 p.
  ۱۴. **Mitra, A.P.; Schlee, E.; Galakrishnan, R. and Pirschner, F., 1995.** Polymorphisms at growth-hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. Vol. 112, pp: 71-74.
  ۱۵. **Moody, D.E.; Pomp, D. and Garendse, W., 1995.** Restriction fragment length polymorphism in amplification products of the bovine *Pit1* gene and assignment of *Pit1* to bovine chromosome 1. *Animal genetics*. Vol. 26, pp: 45-47.
  ۱۶. **Ohta, K.; NoGukuni, Y.; MitsuGuchi, H.; Ohta, T.; Tohma, T.; Jinno, Y.; Endo, F. and Matsuda, I., 1992.** Characterization of the gene encoding human Pituitary specific transcription factor, *Pit1*. *Gene*. Vol. 122, pp: 387-388.
  ۱۷. **Oprzadek, J.; Flisikowski, K.; Zwierchowska, I. and Dymnicki, E., 2003.** Polymorphisms at loci of leptin (*LEP*), *PIT1* and *STAT5A* and their association with growth, feed conversion and carcass quality in black-and-White Gulls. *Animal Science Reports*. Vol. 2, pp: 135-145.
  ۱۸. **Renaville, R.; Gengleer, N.; Vrech, E.; Prandi, A.; Massart, S.; Corradini, C.; Gertozzi, C.; Mortiaux, F.; Gurny, A. and Portetelle, D., 1997.** *Pit1* gene polymorphism,

