مجله تولیدات دامی، دوره ۱۴، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۱، صص ۳۰-۲۱

ارتباط چندشکلی ناحیه اگزون یک ژن IGF-I با برخی صفات زیست‌سنجی گوسفند نژاد مغانی

فاطمه پوربایرامیان [۱]، محمد قادرزاده [۲*]، حافظعلی دلجو عیسی‌لو [۳]، پریسا بیابانی [۴]، محمد بهاءالدین شمس برهان [۵] و پیمان برنج‌فروش [۶]

(E-mail: mg.mahabad1365@gmail.com)

تاریخ وصول مقاله: ۹۱/۰۹/۲۱ ، تاریخ پذیرش مقاله: ۹۱/۱۲/۱۶

چکیده

تحقیق حاضر با هدف مطالعه چندشکلی اگزون یک ژن IGF-I و ارتباط آن با صفات زیست‌سنجی در گوسفند نژاد مغانی به روش PCR-SSCP انجام شد. در این تحقیق، از ۱۰۰ رأس گوسفند نژاد مغانی مرکز اصلاح نژاد گوسفند جعفرآباد مغان واقع در استان اردبیل، با ونوجکت‌های حاوی EDTA از سیاهرگ وداجی خون‌گیری شد. استخراج DNA از خون با روش استخراج بهینه نمکی انجام و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز جهت تکثیر قطعه ۲۷۹ جفت بازی ناحیه اگزون یک ژن IGF-I انجام گرفت. روش تفاوت فرم فضایی رشته‌های منفرد برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها استفاده شد. الکتروفورز محصولات PCR پس از تک‌رشته‌ای شدن قطعات بر روی ژل آکریل‌آمید انجام شد که بیانگر چندشکلی این جایگاه بود. درمجموع در گوسفندان مورد مطالعه سه ژنوتیپ BC، BD و BB به ترتیب با فراوانی‌های ۶۵، ۲۶ و نه درصد به‌دست آمدند. فراوانی‌های ژنوتیپی در جایگاه مورد مطالعه انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ را نشان دادند. آنالیز داده‌های صفات با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت. ژنوتیپ BB با صفت دور ران رابطه معنی‌داری داشت ($P<0/05$)، اما بین سایر صفات زیست‌سنجی، ارتفاع جدوگاه، ارتفاع از پشت، طول بدن، دور سینه با الگوهای ژنوتیپی مشاهده شده رابطه معنی‌داری دیده نشد.

کلمات کلیدی: ژن فاکتور رشد شبه انسولین یک، صفات زیست‌سنجی، گوسفند، نشانگر ژنتیکی

---

۱ - دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران

۲ - دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران (**نویسنده مسئول مکاتبات** *)

۳ - دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان - ایران

۴ - دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران

۵ - دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه، مهاباد - ایران

۶ - دانشجوی کارشناسی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز - ایران

مقدمه

گوسفندان مغانی بیشتر در دشت مغان و نواحی ییلاقی دیده می‌شوند و از لحاظ نژادی نسبتاً خالص بوده و عمده مشخصات فنوتیپی آن گردن متوسط و عضلانی و دارای رشد متناسب، شانه متوسط، عضلات پشت مستقیم و مسطح و عریض، ران عضلانی، جثه گرد و حجیم و اعضایی که نسبت به جثه کوچک به نظر می‌آیند و از مقاومت قابل توجهی برخوردارند (۲). هدف اصلی پرورش گوسفند در ایران تولید گوشت می‌باشد و میزان رشد نیز یکی از صفات مهم اقتصادی برای گوسفندان گوشتی است زیرا رشد سریع سبب می‌شود که گوسفندان در سن کمتر به وزن مناسب برای کشتار رسیده و مدت زمان کمتری برای پرواربندی آنها نیاز باشد (۱). هدف اصلی عشایر از پرورش گوسفند مغانی تولید بره و گوشت است (۲). گوسفند مغانی یکی از مهمترین نژادهای گوشتی کشور است و قابلیت خوبی برای تولید بره‌های سنگین دارد (۱۱).

تولید گوشت یکی از مهمترین عوامل تعیین‌کننده سود اقتصادی در پرورش گوسفند در ایران می‌باشد، لذا برای دستیابی به بیشینه راندمان تولید گوشت، صفات رشد اغلب به عنوان یک معیار مناسب برای انتخاب جهت بهبود راندمان تولید گوشت مورد توجه پژوهشگران می‌باشند (۱۱). وزن بدن یک صفت اقتصادی مهم در انتخاب حیوانات است و هدف اصلی از اصلاح نژاد حیوانات، تلاش برای بهبود صفاتی است که دارای ارزش اقتصادی هستند (۱۵). اندازه‌گیری‌های بدنی در حیوانات به منظور تخمین وزن بدن مورد استفاده قرار می‌گیرد، به‌خصوص در جوامعی که اندازه‌گیری صفات وزنی به سهولت قابل انجام نیست (۲۱، ۲۳ و ۲۴). اصلاح نژاد گوسفند به منظور بهبود صفات زیست‌سنجی از اهمیت خاصی برخوردار بوده و در نژادهای گوشتی سرعت رشد و تیپ بدن به عنوان معیارهای مهم در برنامه‌های انتخاب درنظر گرفته می‌شوند (۴). اندازه‌گیری صفات زیست‌سنجی در کنار اندازه‌گیری وزن، نسبت به روش معمول وزن‌کشی در شناسایی خصوصیات یک فرد یا یک جامعه از کارآیی بیشتری برخوردار است و صفات زیست‌سنجی برای توصیف تفاوت نژادها در حیوانات اهلی مختلف و همچنین توصیف حالتی از ترکیب بدنی استفاده می‌شوند (۱۱).

ژن IGF-I[1] یا عامل رشد شبه انسولین یک، نقش کلیدی در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی دارد (۲۰). همچنین این ژن واسطه‌گر بسیاری از اثرات بیولوژیکی است. IGF-I هضم گلوکز را افزایش و تقسیم سلولی را تحریک می‌کند. مهارکننده مرگ سلولی است و در فعالیت‌هایی از سیکل سلولی ژن‌ها شرکت می‌کند و سنتز لیپیدها و تولید پروستاگلاندین از سلول‌های گرانولار را افزایش می‌دهد و در سنتز DNA، پروتئین، RNA و تکثیر سلول‌ها نقش دارد (۶). به خاطر عملکردهای بیولوژیکی این ژن، IGF-I بیشتر به عنوان یک ژن کاندیدا برای پیش‌بینی رشد و صفات کیفی گوشت در برنامه‌های بهبود ژنتیکی حیوانات مطرح می‌باشد (۱۴). هورمون‌های IGF-1 و IGF-2 تکثیر و تمایز و متابولیسم رده‌های سلولی را در گونه‌های مختلف تحریک می‌کنند (۷). نقصان IGF-I در دوران جنینی سبب ناهنجاری‌های شدید رشد و نمو می‌شود (۲۶).

اولین بار محققان با استفاده از تکنیک SSCP[2] یک موتاسیون تک‌نوکلئوتیدی در ژن IGF-I را در گاوهای آنگوس گزارش نمودند (۸). مطالعه چندشکلی ژن IGF-I در گوسفندان نژاد زل، سه الگوی ژنوتیپی را با استفاده از تکنیک PCR-SSCP آشکار ساخت (۱۰). پژوهشگران طی مطالعه بر روی بزهای *Xinjiang*، بز کشمیر *Bogeda* و بز کشمیر *Nanjiange* چهار الگوی ژنوتیپی AA، AB، BB و AC را برای این نژادها گزارش کردند (۱۹). در بز کشمیر *Nanjiange*، نرمی و لطافت موی کشمیری، ژنوتیپ AA ارتباط معنی‌داری نسبت به ژنوتیپ AB داشت. وزن بدن افرادی با ژنوتیپ AC ارتباط معنی‌دار بالاتری را نسبت به ژنوتیپ BB داشت. مطالعه اگزون یک ژن IGF-I با روش PBR[3] در گاو نجدی، سه ژنوتیپ AA، AB و BB را در این جمعیت نشان داد (۳).

---

1 - Insulin like Growth Factor-1

2 - Single-strand conformation polymorphism

3 - PCR Based RFLP

هدف از انجام پژوهش حاضر، شناسایی چندشکلی ناحیه اگزون یک ژن IGF-I در گوسفندان نژاد مغانی با استفاده از روش چندشکلی فضایی رشته‌های منفرد مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR-SSCP) و همچنین تعیین فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی و ارتباط آن با صفات زیست‌سنجی بود.

مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر، به طور تصادفی از ۱۰۰ رأس گوسفند نژاد مغانی (۵۰ رأس میش و ۵۰ رأس قوچ) مرکز پرورش و اصلاح نژاد جعفرآباد مغان نمونه خون تهیه شد. خون‌گیری با استفاده از لوله‌های ونوجکت حاوی ماده ضدانعقاد[1] و استخراج DNA از ۲۰۰ میکرولیتر خون و به روش بهینه یافته نمکی انجام شد (۱۳). برای تعیین غلظت کیفی DNA از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد و همچنین دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. تکثیر قطعات موردنظر (۲۷۹ جفت بازی) در جایگاه اگزون یک ژن IGF-I توسط آغازگرهای اختصاصی و با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز[2] انجام گرفت (جدول ۱). طراحی آغازگرها براساس توالی‌های ژن IGF-I موجود در بانک ژن با استفاده از نرم‌افزار آمپلفیکس[3] انجام گرفت. دو آغازگر باید طوری طراحی شوند که دارای دمای ذوب یکسان باشند، در غیر این صورت، حرارت مناسب برای یک پرایمر، ممکن است برای پرایمر دیگر نامناسب باشد. بسیاری از آزمایشگاه‌ها دمای چسبیدن را از ۵-۳ درجه سانتی‌گراد زیر دمای ذوب درنظر می‌گیرند. دمای ذوب پرایمرها در تحقیق حاضر ۵۴/۸°C محاسبه گردید.

غلظت مواد مورد استفاده در PCR و نیز دما و زمان‌های مورد استفاده در چرخه حرارتی برای هر یک از جایگاه‌ها در جدول‌های (۲) و (۳) ارائه شده است.

محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد و با ولتاژ ۸۰ ولت به مدت دو ساعت الکتروفورز شدند. رنگ‌آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید (۱۰ mg/ml) انجام گرفت. برای آنالیز محصولات PCR توسط روش SSCP از ژل آکریل سرد هشت درصد استفاده شد. برای این منظور، دو میکرولیتر از محصول PCR با هشت میکرولیتر بافر بارگذاری SSCP (شامل ۱۰ میکرولیتر بروموفنل ۱۰ درصد + ۲ میکرولیتر EDTA ۰/۵ مولار + ۱۹۰ میکرولیتر گلیسرول + ۸۰۰ میکرولیتر فرم‌آمید) مخلوط گردید و به مدت پنج دقیقه در دمای ۹۵°C در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به سرعت داخل یخ قرار داده شدند تا از اتصال مجدد رشته‌های مکمل به یکدیگر ممانعت به عمل آید (۱۷). نمونه‌ها در ژل آکریل سرد هشت درصد با ولتاژ ۳۲۰ و مدت زمان ۱۵۰ دقیقه برای مشاهده تفاوت‌های تک‌نوکلئوتیدی الکتروفورز گردیدند. رنگ‌آمیزی ژل با استفاده از روش نیترات نقره صورت گرفت (۵).

تجزیه و تحلیل آماری

فراوانی آللی، فراوانی ژنوتیپی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار با استفاده از نرم‌افزار *Pop gene 32* محاسبه گردید (۲۵). اطلاعات مربوط به ۱۰۰ رأس گوسفند مغانی مورد آزمایش شامل طول بدن، دور سینه، دور ران، ارتفاع کمر، ارتفاع جدوگاه، جنس گوسفندان، سن رکوردگیری و تاریخ تولد جمع‌آوری گردید. برای بررسی ارتباط هر یک از الگوها و صفت‌های مورد مطالعه پس از آزمون نرمال بودن داده‌ها، داده‌های صفت دور سینه که از توزیع نرمال برخوردار نبود با روش *Boxcox* و با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.12 و رویه *Transreg* یک مقدار به نام لامبدا (λ) به‌دست آورده شد. سپس با کمک فرمول زیر داده‌ها نرمال گردید که در آن X(n) داده نرمال شده و X داده غیرنرمال می‌باشد:

$$X(n) = (x^{\lambda} - 1) / \lambda \quad (۱)$$

مدل آماری مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل داده‌ها (مشاهدات) به شرح زیر بود:

$$Y_{ijklmn} = \mu + LS_i + YB_j + G_k + Sex_l + Age_m + e_{ijklm} \quad (۲)$$

در این رابطه، Y_{ijklm} مقدار صفت برای هر دام، μ میانگین جامعه، LS_i اثر ثابت i امین چگونگی تولد (تیپ تولد)، YB_j

1 - Ethylenediaminetetraacetic acid

2 - Polymerase chain reaction

3 - Amplifx

اثر ثابت j امین سال تولد، G_k اثر تصادفی k امین ژنوتیپ، Sex_l اثر ثابت l امین جنس، Age_m اثر m امین سن رکوردگیری (روز) به عنوان متغیر همراه و e_{ijklm} اثرات باقیمانده (خطای آزمایش) می‌باشد.

عوامل تیپ تولد، سال تولد و جنس دام در تمامی صفات مورد بررسی اثر معنی‌داری نشان دادند و اثر سن مادر، فصل تولد و ماه تولد در هیچ‌کدام از صفات اثر معنی‌داری نداشتند و در مدل وارد نشده‌اند. آنالیز واریانس با رویه GLM و مقایسه بین میانگین‌ها با آزمون توکی مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱ – توالی آغازگرهای مورد استفاده

نام جایگاه	۵′----------۳′
اگزون یک IGF-I	R:5′-CTGAGGGGAGCCAATTACAAAG-3′ F:5′-ACACATCTGCTAATACACCTTACC-3′

جدول ۲ – غلظت مواد مورد استفاده در واکنش PCR

اجزای واکنش	غلظت
dNTP	۰/۲ میلی‌مولار
$MgCl_2$	۱/۵ میلی‌مولار
آغازگر رفت	۱۰ میکرومولار
آغازگر برگشت	۱۰ میکرومولار
بافر PCR (10X)	۲/۵ میکرولیتر
آنزیم تک پلی‌مراز	۱ واحد
DNA ژنومی	۱۰۰ نانوگرم
حجم نهایی	۲۵ میکرولیتر

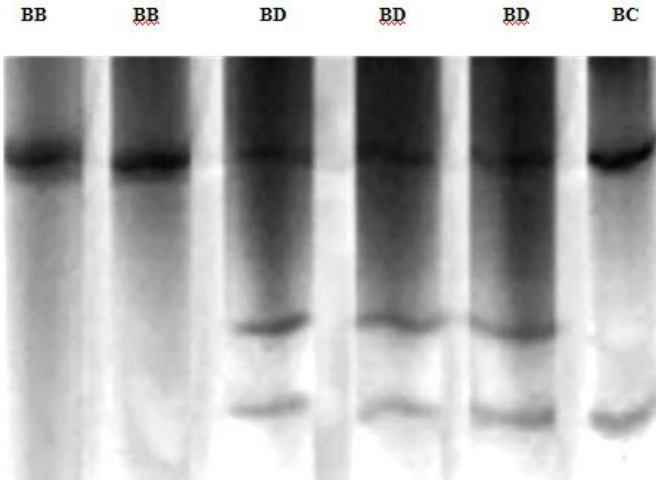
جدول ۳ – دما و زمان‌های مورد استفاده در واکنش PCR برای ژن کاندید تحت مطالعه

تعداد چرخه	مراحل	دما (سانتی‌گراد)	زمان
۱	واسرشته‌سازی اولیه	۹۵	۵ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۹۴	۴۵ ثانیه
۳۵	اتصال آغازگرها	۵۷	۴۵ ثانیه
	تکثیر	۷۲	۳۰ ثانیه
۱	تکثیر نهایی	۷۲	۵ دقیقه

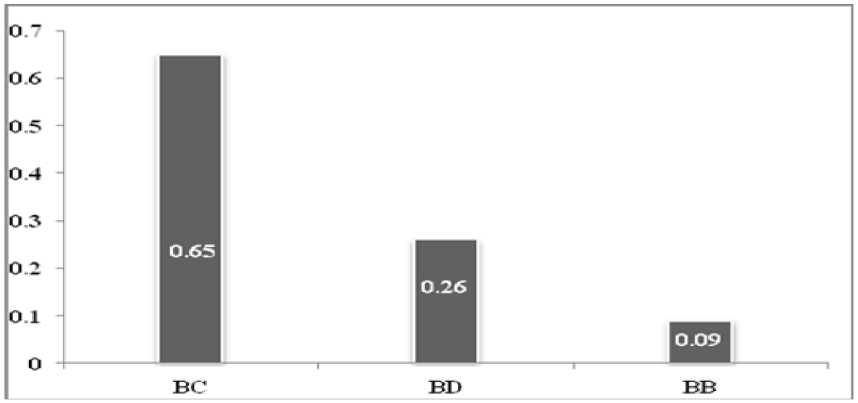
نتایج و بحث

در مرحله بررسی کیفیت DNA استخراج شده، از ژل آگارز یک درصد استفاده شد و نمونه‌هایی که دارای باند روشن و واضح بودند، مورد قبول قرار گرفتند و برای ادامه کار استفاده شدند. قطعه ۲۷۹ جفت بازی از اگزون یک ژن IGF-I تکثیر و برای تأیید صحت قطعه تکثیر شده از نشانگر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی (سیناژن – ایران) استفاده شد. مقدار χ^2 محاسبه شده نشان داد که جمعیت در حال تعادل هاردی – واینبرگ نمی‌باشد. عدم تعادل مشاهده شده در این گله می‌تواند درنتیجه استفاده از تعداد محدودی قوچ در گله، غیرتصادفی بودن آمیزش‌ها، کوچک بودن نمونه گرفته شده از جمعیت، حضور برخی عوامل برهم‌زننده تعادل، از جمله انتخاب به دلیل اجرای برنامه اصلاحی در جمعیت مورد بررسی و مهاجرت خصوصاً در مورد نرهایی که از بیرون مرکز اصلاح نژاد وارد گله می‌شوند و ایجاد یک جریان ژنی باشد.

پس از الکتروفورز عمودی، محصولات تک‌رشته‌ای PCR بر روی ژل پلی‌آکریلامید باتوجه به فرم فضایی خاص خود و در پی آن وزن مولکولی خاصی که داشتند، در نقاط مختلف ژل قرار گرفتند و نهایتاً سه نوع ژنوتیپ BB، BC و BD درصد در جمعیت مورد مطالعه، مشاهده شدند. فراوانی‌های آلل B، C و D به‌ترتیب ۰/۵۴۵۰، ۰/۳۲۵۰ و ۰/۱۳ برآورد شدند.



شکل ۱ – الگوهای نواری ایجاد شده برای اگزون یک ژن IGF-I در گوسفندان نژاد مغانی



شکل ۲ – فراوانی‌های ژنوتیپی الگوهای مختلف شناسایی شده اگزون یک ژن IGF-I گوسفند مغانی

مطالعه تنوع ژنتیکی درون جمعیت در تحقیق حاضر از طریق اندازه‌گیری معیارهایی مانند هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی نئی (متوسط هتروزیگوسیتی) انجام شد (۱۶). باتوجه به نتایج به‌دست آمده مشاهده می‌گردد که اندازه مؤثر آللی عدد ۲/۳۸ برآورد شده است و تعداد آلل واقعی به‌دست آمده در این تحقیق عدد سه آلل (D، C و B) می‌باشد (جدول ۴). نزدیکی اندازه مؤثر آللی و تعداد آلل واقعی در این تحقیق ممکن است بیانگر کارایی خوب آلل‌ها در ایجاد چندشکلی باشد. مقادیر شاخص شانون و شاخص هتروزیگوسیتی نئی برای گوسفندان مغانی نسبتاً بالا برآورد گردید که این مقادیر برای این جایگاه ژنی بیانگر میزان تنوع نسبتاً بالایی است زیرا شاخص هتروزیگوسیتی یکی از شاخص‌های مهم در تنوع ژنتیکی است و اغلب مورد توجه اصلاح‌گران دام می‌باشد.

جدول ۴ - پارامترهای ژنتیکی برآورد شده ژن IGF-I در گوسفند نژاد مغانی

جایگاه ژنی	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	اندازه مؤثر آللی	هتروزیگوسیتی نئی	هموزیگوسیتی مورد انتظار	هموزیگوسیتی مشاهده شده	شاخص شانون
اگزون ۱	۰/۹۱	۰/۵۸۳۸	۲/۳۸	۰/۵۸۳۸	۰/۴۱۶۶	۰/۰۹	۰/۵۸

در تحقیق حاضر، سه الگوی باندی مختلف مشاهده شد که با نتیجه به‌دست آمده از این پژوهش بر روی گوسفندان آمیخته، نتایج تحقیقات در گوسفند بلوچی و همچنین پژوهش‌های انجام گرفته بر روی گوسفندان زل مطابقت دارد (۱۳، ۲۱ و ۲۶). همانند مطالعاتی که بر روی گوسفند آمیخته و زل گزارش شده است، در تحقیق حاضر نیز ژنوتیپ BB کمترین مقدار فراوانی ژنوتیپی را داشت. پژوهشگران در طی مطالعه‌ای که بر روی گوسفندان پلی‌پای انجام دادند، دو الگوی ژنوتیپی را برای این جایگاه شناسایی کردند. دلیل احتمالی تفاوت در تعداد ژنوتیپ‌های شناسایی شده در این تحقیق با نتایج یافته‌های قبلی در گوسفندان نژاد پلی‌پای، ممکن است مربوط به نوع نژاد و وجود جهش در جایگاه ژنی گوسفندان مذکور باشد (۲۶). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ژنوتیپ روی صفت دور ران معنی‌دار است. بین ژنوتیپ BB با ژنوتیپ‌های BC و BD اختلاف معنی‌داری برای صفت دور ران مشاهده شد و بین ژنوتیپ BC با BD برای این صفت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. دام‌های با ژنوتیپ BB دارای بیشترین میانگین (۳۲/۷۶) برای صفت دور ران بودند و کمترین میانگین (۳۰/۳) برای صفت دور ران مربوط به دام‌های با ژنوتیپ BC بود. همچنین بین الگوهای مشاهده شده برای اگزون یک ژن IGF-I با صفات ارتفاع جدوگاه، ارتفاع از پشت، طول بدن، دور سینه، رابطه معنی‌داری مشاهده نشد. بررسی نتایج نشان می‌دهد که در کلیه صفات زیست‌سنجی گوسفند مغانی ژنوتیپ‌های مربوط به ژن IGF-I به صورت هم‌بارز عمل کرده و هیچ‌گونه اثر غالبیت در این صفات مشاهده نشد (جدول ۵). همچنین تمام دام‌های با ژنوتیپ BC دارای میانگین بیشتری برای صفات ارتفاع جدوگاه، ارتفاع از پشت، طول بدن، دور سینه بودند اما رابطه معنی‌داری بین این صفات و الگوهای ژنوتیپی مشاهده نشد.

محققان طی مطالعه‌ای بر روی جایگاه اگزون یک ژن IGF-I، در گوسفند بلوچی یک اثر ارتباطی بین این الگوهای SSCP با وزن تولد، وزن از شیرگیری، میانگین افزایش وزن روزانه از تولد تا شیرگیری، از شیرگیری تا شش‌ماهگی و از شش‌ماهگی تا یک‌سالگی اثر مثبت ژنوتیپ AB با میانگین افزایش وزن روزانه و وزن از شیرگیری را شناسایی و مشخص کردند (۲۱). در گوسفند بلوچی ژنوتیپ BB میزان وزن تولد بالاتری را در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها داشت، به علاوه در گوسفند بلوچی اثر ژنوتیپ AA بر وزن زنده در یک‌سالگی

مطلوب ارزیابی شد (۲۱). پژوهش‌ها چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی را در اینترون چهارم ژن IGF-I بز آشکار ساخت به‌طوری‌که سه ژنوتیپ CC، GC و GG برای این جایگاه مشاهده شد، چندشکلی ژن IGF-I ارتباط معنی‌داری با وزن تولد، وزن بدن در شش‌ماهگی و ۱۲ ماهگی، دور سینه در دوماهگی، طول بدن در شش‌ماهگی، ارتفاع جدوگاه در شش‌ماهگی و در ۱۲ ماهگی و دور سینه در ۱۲ ماهگی داشت (۲۷). برخی محققان مشخص کردند که در ناحیه ′۵ این ژن و ۵۱۲ جفت باز قبل از اولین کدون اگزون اول (ATG) یک جهش جایگزینی نوکلئوتیدی T با C اتفاق افتاده است به‌طوری‌که ژنوتیپ BB در این جایگاه، با اضافه وزن بدن گاوهای آنگوس در ۲۰ روز پس از شیرگیری ارتباط معنی‌داری داشت (۹). در گزارشی دیگر، یک چند شکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) از IGF-I/*snaBI* به عنوان یک نشانگر ژنتیکی در گاو شاروله مکزیکی و نقش آن در ارتباط با وزن از شیرگیری و افزایش وزن قبل از شیرگیری ثابت شده است (۲۰).

در این تحقیق، برای بررسی چندشکلی ژنوتیپی ژن IGF-I تکنیک PCR–SSCP به طور مناسب به‌کار گرفته شد اما صرفاً استفاده از این روش کافی نیست و لذا باید سایر روش‌های دیگر نیز مورد استفاده قرار گیرند. در نژاد مغانی در ژنوتیپ‌های BB با BD و BC در صفت دور ران تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) (جدول ۵). از آن‌جا که تعداد نمونه‌های مورد آزمایش محدود بودند، این احتمال وجود دارد که با تعداد نمونه‌های بیشتر ژنوتیپ‌های دیگری از این ژن در نژاد مغانی مشاهده شود. از آنجا که صفات زیست‌سنجی برای تخمین وزن بدنی در گوسفند استفاده می‌شود و صفات رشد به عنوان صفات مهم در انتخاب حیوانات مطرح می‌باشند. با انجام تحقیق حاضر مشخص گردید که ژن IGF-I در گوسفند مغانی احتمالاً می‌تواند نشانگر ژنتیکی مفیدی برای افزایش رشد گوسفندان مغانی باشد که با نتایج یافته‌های قبلی مطابقت دارد (۲۱ و ۲۷).

در تحقیق حاضر که با استفاده از روش چندشکلی فضایی رشته‌های منفرد مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز انجام گرفت، سه ژنوتیپ مختلف شناسایی و مشاهده گردید و می‌توان روش PCR-SSCP را به عنوان یکی از فن‌آوری‌های مناسب و کم‌هزینه در شناسایی چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی در گوسفند مغانی توصیه نمود. همچنین از آنجایی‌که ژن IGF-I به عنوان محرک رشد می‌باشد و باتوجه به نقش بسیار مهم هورمون رشد و در پی آن اثراتی که این هورمون بر صفت‌های مهم تولیدی – اقتصادی می‌گذارد، با درنظر گرفتن شناسایی چندشکلی و وجود ژنوتیپ‌های متنوع در این جایگاه از ژن عامل رشد شبه انسولین یک در نژاد مغانی و همچنین ارتباط معنی‌داری که بین این الگوها و برخی از صفات دیده شد، می‌توان با انجام تحقیقات بیشتر در مورد این ژن و تصدیق یافته‌های این پژوهش، این نشانگر مولکولی را در برنامه به‌نژادی در گوسفندان نژاد مغانی مورد توجه قرار داد. بنابراین احتمالاً ژن IGF-I می‌تواند به عنوان نشانگر ژنتیکی مناسبی در زمینه اصلاح نژاد گوسفندان مناطق بومی ایران مورد توجه قرار گیرد. همچنین باتوجه به معنی‌دار بودن رابطه برخی ژنوتیپ‌ها و صفت دور ران در این تحقیق، می‌توان با انجام مطالعات بیشتر و تأیید و تکرار نتایج تحقیق حاضر، از ژنوتیپ BB به عنوان شاخصی برای رشد بالاتر در برنامه‌های به‌نژادی استفاده نمود. باتوجه به نتایج به‌دست آمده، تعداد نمونه‌های مورد استفاده در این تحقیق کافی به نظر نمی‌رسد، لذا بهتر است در مطالعات آینده در مورد ژن IGF-I و ارتباط چندشکلی آن با صفات زیست‌سنجی، صفات رشد و صفات اقتصادی دام و طیور از تعداد نمونه‌های بزرگتری جهت اطمینان خاطر بیشتر و تعمیم نتایج آنها به جمعیت‌های مورد بررسی استفاده گردد. باتوجه به مطالعات انجام گرفته بر روی این ژن در این تحقیق و مطالعات قبلی در سایر نژادهای گوسفند در کشور می‌توان چنین بیان کرد که در نژادهای ایرانی نیز این ژن به صورت چندشکلی وجود دارد. همچنین می‌توان با به‌کارگیری و تلفیق نتایج حاصل از مطالعات مولکولی و رکوردهای فنوتیپی و ثبت شده گوسفندان زمینه هرچه بهتر طراحی برنامه‌های انتخاب و به‌گزینی گوسفندان بومی کشور را فراهم آورد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولین مرکز اصلاح نژاد گوسفند مغانی شهرستان جعفرآباد و همچنین سازمان جهاد کشاورزی اردبیل قدردانی می‌گردد.

جدول ۵ - مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مختلف ژن IGF-I برای صفات زیست‌سنجی (میانگین ± انحراف معیار) در گوسفند مغانی

صفت (سانتی‌متر)	ژنوتیپ		
	BB	BD	BC
طول بدن	۴۹/۳ ± ۱/۱	۵۰/۷ ± ۱/۶	۵۱/۶ ± ۰/۹
دور سینه	۹۱/۷ ± ۰/۹	۹۰/۹ ± ۱/۱	۹۲/۵ ± ۱/۲
ارتفاع از جدوگاه	۶۸/۸ ± ۰/۲۱	۶۹/۸ ± ۰/۱۱	۷۰/۲ ± ۰/۸
ارتفاع از پشت	۷۰/۱ ± ۰/۸۹	۷۰/۸ ± ۰/۸۶	۷۱/۲ ± ۲/۱
دور ران	۳۲/۸ ± ۰/۹ [a]	۳۱/۱ ± ۰/۵ [b]	۳۰/۳ ± ۱/۲ [b]

در هر ردیف هر دو میانگین با حروف غیرمشابه، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

منابع مورد استفاده

۱ . سعادت نوری، م. و سیاه‌منصور ص (۱۳۸۵) اصول نگهداری و پرورش گوسفند. چاپ دهم، انتشارات اشرفی، صص. ۲۴۲-۲۳۳.

۲ . نصرتی م (۱۳۷۷) برآورد پارامترهای ژنتیکی و فنوتیپی وزن بدن در سنین مختلف و تولید پشم سالیانه در گوسفندان مغانی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تبریز.

۳ . یزدان پناه ا.، خدرزاده ص. و محمدی کفترکاری ص (۱۳۸۹) بررسی چندشکلی ژن IGF-I در جمعیت گاو میش استان خوزستان با استفاده از تکنیک PBR. چهارمین کنگره علوم دامی ایران، کرج.

4 . Abbasi MA and Farhad GK (2011) Genetic (Co) variance Components for Body Weight and Body Measurements in Makooei Sheep. Asian-Australasian Journal Animal Sciences. 24(6): 739-743.

5 . Benbouza HA, Jacquemin JM, Baudoin JP and Mergeai GU (2006) Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gel. Biotechnology. Agronomy, Society and Environment. 10(2): 77-81.

6 . Etherton TD (2004) Somatotropic function the somatomedian hypothesis revisited. Animal Science. 82(4): 239-244.

7 . Florini JR, Ewton DZ and Coolican SA (1996) Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis. Endocrine Reviews. 17(5): 481-517.

8 . Ge WA, Davis ME and Hines HC (1997) Two SSCP alleles detected in the 5'-flanking region of bovine IGF1 gene. Animal Genetics. 28(2): 155-156.

9 . Ge WA, Davis ME, Hinec HC, Irvin KM and Simmen RC (2001) Associations of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-1 concentration and growth traits in angus cattle. Animal Science. 79(7): 1757-1762.

10 . Honarvar MO, Sadeghi MO, Moradi-Shahre babak HO, Behzadi SH, Mohammadi HO and Lavaf AB (2012) Study of polymorphisms in the 5" flanking region of the ovine IGF-I gene in Zel sheep. World Applied Sciences. 16(5): 726-728.

11 . Hossein-Zadeh NG and Ardalan ME (2010) Comparison of different models for the estimation of genetic parameters of body weight traits in Moghani sheep. Agricultural and Food Science. 19(6): 207-213.

12 . Javanrouh AL, Banabazi MH, Esmaeilkhanian SA, Amirinia CY, Seyedabadi HR and Emrani HA (2006) Optimization on salting out method for DNA extraction from animal and poultry blood cells. The 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production. Antalya, Turkey 21-25 August.

13 . Kazemi SM, Amirinia CY, Emrani HA and Gharahveysi SH (2011) Study and identification of Insulin-Like Growth Factor-I gene polymorphisms in Zel sheep population. American Journal of Animal and Veterinary Sciences. 6(4): 176-179.

14 . Machado MB, Alencar MM, Pereira PP, Oliveira HN, Casas ED, Coutinho LL and Regitano LC (2003) QTL affecting weight in candidate region of cattle chromosome 5. Genetics and Molecular Biology. 26(3): 259-265.

15 . Mmereole FU and Obinne JI (2010) Relationship of the body weight and linear measurements of the west African Dwarf (WAD) sheep under the humid environment of Nigeria. Agricultura Tropica et Subtropica. 43(1): 64-67.

16 . Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 70(12): 3321-3323.

17 . Pipalia DL, Joshi CG, Rank DN, Brahmkshtri BP and Sonlanki JV (2004) PCR-SSCP typing of MHC in cattle and buffaloes. Indian Journal of Animal Sciences. 74(6): 637-639.

18 . Pundir RK, Singh PK, Singh KP and Dangi PS (2011) Factor analysis of biometric traits of kankrej cows to explain body Conformation. Asian - Australasian Journal of Animal Sciences. 24(4): 449-456.

19 . Qiong WA, Chao FA, Wu-Jun LI, Yi FA and Shi-Gang YU (2011) A Novel Mutation at exon 4 of gene in three indigenous goat breeds in china. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances. 6(6): 627-635.

20 . Reyna XF, Montoya HM, Castrellon VV, Rincon AM, Bracamonte MP and Vera WA (2010) Polymorphisms in the IGF-I gene and their effect on growth traits in Mexican beef cattle. Genetics and Molecular Research. 9(2): 875-883.

21 . Tahmoorespur MO, Valeh ME, Nassiry MR, Heravi Moussavi AL and Ansary MA (2009) Association of the polymorphism in the 5' flanking region of the ovine IGF-I gene with growth traits in the Baluchi sheep. South African Journal of Animal Science. 39(5): 97-101.

22 . Topal ME and Macit MU (2004) Prediction of body weight from body measurements in Morkaraman sheep. Applied Animal Research. 25(2): 97-100.

23 . Yakubu AL, Abdullah AR, Ari MM, Ogah DM (2005) Studies on live weight and linear body measurements of West African Dwarf sheep in North Central Nigeria. Production Agriculture and Technology. 1(3): 37-145.

24 . Yakubu AL (2010) Path coefficient and path analysis of body weight And biometric traits in Yankasa lambs. Slovak Journal of Animal Science. 43(1): 17-25.

25 . Yeh FC, Yang RC and Boyle Ti (1999) POPGENE (V. 1.31). University of Alberta and Centre for International Forestry Research. USA.

26 . Yilmaz AE, Michael CH, Harold HI and Hoyoung CH (2005) Detection of two nucleotide substitutions and putative promoters in the 5' flanking region of the ovine IGF-I gene. Applied Genetics. 46(3): 307-309.

27 . Zhang CH, Zhang WE, Luo HA, Yue WE, Gao MI and Jia ZH (2008) A new single nucleotide polymorphism in the IGF-I gene and its association with growth traits in the Nanjiang Huang goat. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 21(8): 1073-1079.

Association study between some of biometric traits and IGF-I gene exon 1 polymorphism in Moghani sheep

F. Pourbayramian [1], M. Ghaderzadeh [2*], H. A. Deljoo Isaloo [3], P. Biabani [4], M. B. Shams Borhan [5] and P. Barenj Foroush [6]

(E-mail: mg.mahabad1365@gmail.com)

Abstract

The current study was designed to estimate the frequency of IGF-I gene 1 polymorphism and investigate if their polymorphisms have association with biometric traits in Moghani sheep by PCR-SSCP method. For this purpose, a number of 100 sheep were randomly chosen from Moghani sheep Jafarabad, Moghan breeding station that located in Ardabil state and blood samples were collected from the left jugular vein using vacuum tubes. DNA were extracted from blood samples that using the salting-out procedure and amplified a fragment of 279 bp in size from IGF-I gene exon 1. The Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP) method was used for genotyping. Electrophoresis of PCR products were done on acrylamide gel that observed the polymorphic in this region. Based on SSCP patterns, three genotypes BC, BD and BB obtained with frequencies of 65, 26 and nine percent, respectively. The genotypes in this locus deviated from HWE. The traits data were analyzed using the SAS program. The BB genotype were associated with Leg girth but no association of the other genotypes with the withers height, back height, body length, breast girth other examined biometric traits were found ($P< 0.05$).

Keywords: Biometric traits, Genetic marker, Insulin like growth factor 1 gene, Sheep

1 – M.Sc. Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia - Iran

2 – M.Sc. Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia - Iran **(Corresponding Author *)**

3 – M.Sc. Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan - Iran

4 – M.Sc. Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia - Iran

5 – M.Sc. Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University Maragheh Branch, Mahabad - Iran

6 – B.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University Tabriz Branch, Tabriz - Iran